Organizador
Edilson Antonio Catapan
AS CIÊNCIAS AGRÁRIAS
e seus impactos na sociedade
Vol. 04
São José dos Pinhais
BRAZILIAN JOURNALS PUBLICAÇÕES DE PERIÓDICOS E EDITORA
2020
BrJ

Edilson Antonio Catapan
(Organizador)

As ciências agrárias e seus impactos na sociedade.

Vol. 04

Brazilian Journals Editora
2020

Diagramação: Aline Barboza
Edição de Arte: Sabrina Binotti
Revisão: Os Autores

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C357c Catapan, Edilson Antonio

As ciências agrárias e seus impactos na sociedade – Volume 04 / Edilson Antonio Catapan. São José dos Pinhais: Editora Brazilian Journals, 2020.
344 p.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui: Bibliografia
ISBN: 978-65-86230-31-4

1. Estudo de casos. 2. Melhora das demandas na rede de saúde. I. Catapan, Edilson Antonio II. Título

Brazilian Journals Editora
São José dos Pinhais – Paraná – Brasil
www.brazilianjournals.com.br
editora@brazilianjournals.com.br

APRESENTAÇÃO

A obra intitulada "As ciências agrárias e seus impactos na sociedade 4", publicada pela Brazilian Journals, apresenta um conjunto vinte e três capítulos que visa abordar diversas temáticas ligadas à área da agricultura como uma das atividades econômicas mais antigas e mais importantes de nosso planeta. Atualmente, um dos grandes desafios desta atividade é aumentar a produção utilizando os recursos naturais com responsabilidade, de forma a preservar o meio ambiente. O e-book traz assuntos relacionados com a exploração da terra, criação de animais e de cultivo de vegetais, ferramentas para o aumento da produção, aprimoramento de tecnologias de manejo e preservação dos recursos naturais.

Logo, os artigos apresentados neste volume abordam: "Estado da arte" sobre o cultivo de oliveiras: uma abordagem sobre a colheita; calibração do sensor capacitivo de umidade do solo EC-5 em resposta a granulometria do solo; propriedades funcionais e antioxidantes de um hidrolisado de farinha de sangue de frango; diatomáceas como indicadoras da qualidade da água em rios urbanos; Preparação de atolamento gourmet de frutas vermelhas com caracterização genética, química, microbiológica e sensorial, entre outros.

Dessa forma, agradecemos aos autores por todo esforço e dedicação que contribuíram para a construção dessa obra, e esperamos que este livro possa colaborar para a discussão e entendimento de temas relevantes para a área de educação, orientando docentes, estudantes, gestores e pesquisadores à reflexão sobre os assuntos aqui apresentados.

Edilson Antonio Catapan

SUMÁRIO

CAPÍTULO 01

ESTADO DA ARTE” SOBRE O CULTIVO DE OLIVEIRAS: UMA ABORDAGEM SOBRE A COLHEITA.

Tiago Gonçalves Lopes
Doutorando em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Santa Maria
Instituição: Universidade Federal de Santa Maria
Endereço: Avenida Roraima, 1000 - Camobi, Santa Maria – RS, Brasil
E-mail: tiagoglopes@yahoo.com.br

Airton dos Santos Alonço
Doutor em Engenharia Mecânica pela Universidade Federal de Santa Catarina
Instituição: Universidade Federal de Santa Maria
Endereço: Avenida Roraima, 1000 - Camobi, Santa Maria – RS, Brasil
E-mail: airtonalonco@gmail.com

Gessieli Possebom
Doutoranda em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Santa Maria
Instituição: Universidade Federal de Santa Maria
Endereço: Avenida Roraima, 1000 - Camobi, Santa Maria – RS, Brasil
E-mail: gessielip@hotmail.com

Mayara Torres Mendonça
Doutoranda em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Santa Maria
Instituição: Universidade Federal de Santa Maria
Endereço: Avenida Roraima, 1000 - Camobi, Santa Maria – RS, Brasil
E-mail: mayaratorres@id.uff.br

Rômulo Bock
Mestrando em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Santa Maria
Instituição: Universidade Federal de Santa Maria
Endereço: Avenida Roraima, 1000 - Camobi, Santa Maria – RS, Brasil
E-mail: romulobock1994@gmail.com

Henrique Eguilhor Rodrigues
Mestrando em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Santa Maria
Instituição: Universidade Federal de Santa Maria
Endereço: Avenida Roraima, 1000 - Camobi, Santa Maria – RS, Brasil
E-mail: henrique_eguilhor@hotmail.com

Wagner Alexandre Silveira da Cruz
Mestrando em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Santa Maria
Instituição: Universidade Federal de Santa Maria
Endereço: Avenida Roraima, 1000 - Camobi, Santa Maria – RS, Brasil
E-mail: wagnercasca@hotmail.com

RESUMO: A conscientização da sociedade sobre a importância da alimentação saudável e dos benefícios que o azeite de oliva traz à saúde, têm aquecido a economia brasileira e motivado produtores, associações e empresas a investirem na implantação de novos olivais em todo o país. Em consequência, a cada nova safra ocorre a expansão da área de colheita, logo, dos custos de produção. Assim, levando em consideração que os custos de colheita representam um elevado percentual dos custos totais, é indispensável conhecer as características de cada método de colheita, e quais aspectos devem ser levados em consideração no momento de sua escolha. Para isso, o presente trabalho constitui-se de uma revisão narrativa descrevendo o estado da arte do cultivo de oliveiras com enfoque no processo de colheita, sob o ponto de vista teórico e contextual. Analisando criticamente, foi possível observar que os métodos de colheita manuais requerem abundância em mão de obra devido a sua baixa eficiência operacional. A colheita mecanizada, é uma alternativa a este problema, além de possibilitar redução dos custos de produção. No entanto, a escolha da colhedora ideal depende entre outros fatores, do objetivo de produção, da escala de área cultivada, bem como de mão de obra especializada.

PALAVRAS-CHAVE: Mecanização agrícola. Colhedoras. Olea Europaea.

ABSTRACT: The awareness of society about the importance of healthy eating and the benefits that olive oil brings to health has warmed the Brazilian economy and motivated producers, associations and companies to invest in the implementation of new olive groves throughout the country. As a result, with each new harvest there is an expansion of the harvesting area, as well as production costs. Therefore, taking into account that harvesting costs represent a high percentage of production costs, it is essential to know the characteristics of each harvesting method, and which aspects should be taken into consideration at the time of your choice. To this end, this work is a narrative review describing the state of the art of olive tree cultivation with a focus on the harvesting process from a theoretical and contextual point of view. Critically analyzing, it was possible to observe that manual harvesting methods require an abundance of labor due to their low operational efficiency. Mechanized harvesting is an alternative to this problem, in addition to reducing production costs. However, the choice of the ideal harvester depends, among other factors, on the production objective, the scale of the cultivated area, as well as specialized labor.

KEYWORDS: Agricultural mechanization. Combine harvesters. Olea Europaea.

1. INTRODUÇÃO

Originária do Mediterrâneo, a oliveira (Olea europaea L.) é pertencente à família botânica Oleaceae e é a única espécie desta família que produz fruto comestível. É um dos cultivos mais antigos do mundo, com relatos históricos de 3 mil a 4 mil anos a.C., na Palestina. Desde a antiguidade, o cultivo desta frutífera foi importante para o desenvolvimento da civilização humana, seja para a alimentação, devido ao seu alto poder nutritivo, como para outras aplicações cotidianas, como iluminação, limpeza, cosmética e medicina (COUTINHO *et al*., 2015).

Em 2018, cerca de 11,5 milhões de hectares de oliveiras foram plantados em todo o mundo (VILAR E PEREIRA, 2018). Deste total, 13 % da produção obtida foi dedicada a azeitonas de mesa, enquanto 87 % foi destinado à produção de azeite. Neste contexto, o continente europeu destaca-se como o maior produtor de azeitonas do mundo (6,3 milhões de hectares), sendo a Espanha o maior país produtor, com mais de 2,5 milhões de hectares cultivados.

No Brasil, o cultivo da azeitona foi introduzido em meados dos anos 1800 através dos portugueses, que plantaram oliveiras em várias regiões do Sul e Sudeste do país (VILAR E PEREIRA, 2018). A maioria das plantações foi estabelecida nas proximidades de igrejas, pois o azeite extraído dos frutos era utilizado como óleo sagrado em cerimônias religiosas, além de servir como alimento e como combustível de luminárias antigas. Contudo, o cultivo foi proibido através de decreto real de Portugal, que temia possíveis competições com a coroa portuguesa, o que aliado ao argumento português de más condições edafoclimáticas do Brasil, ocasionou decréscimo do cultivo de oliveiras no país.

Segundo Kist *et al*. (2019), o Brasil destaca-se no mercado de oliveiras como o segundo maior importador e sétimo maior consumidor mundial de matéria prima e industrializados, importando 110 mil toneladas de azeitonas e 78 mil toneladas de azeite de oliva na safra 2018/19. Estas estatísticas não levam em consideração a produção brasileira de oliveiras, visto que apenas 0,3 % do azeite consumido no Brasil provém de sua produção nacional.

Neste cenário, no ano de 2019, a olivicultura ocupou cerca de 7 mil hectares no país (KIST *et al*., 2019), sendo que destes, estima-se que apenas 40 % está em produção, uma vez que somente a partir do quarto ano, a árvore inicia a produção de

frutos (IBRAOLIVA, 2019). Ainda assim, o país destaca-se no cenário mundial com o maior crescimento em área cultivada dos últimos anos (OLIVAPEDIA, 2019). Em especial no estado do Rio Grande do Sul, que, no ano de 2019, respondeu pela ampla maioria da área cultivada, passando de 80 hectares no ano de 2005, para 4,5 mil hectares em 2019 (KIST *et al*., 2019).

Esse crescimento de área cultivada culminou na elevação da produção de azeite passando de 140 mil litros em 2018, para 260 mil litros na safra 2019, sendo o estado do Rio Grande do Sul responsável por 76,9 % do total de azeite produzido (KIST *et al.,* 2019). A previsão para o ano de 2020 é que o Brasil atinja 10 mil hectares plantados, e que até o ano de 2025 ultrapasse a barreira dos 20 mil hectares (IBRAOLIVA, 2020).

Os inquestionáveis índices de crescimento da olivicultura no Brasil, foram motivados, especialmente por crescentes investimentos e desenvolvimento de pesquisas, tecnologias e infraestrutura, que viabilizaram e serviram de aporte para a introdução de oliveiras, incentivando produtores e empresários a cada vez investirem mais nesta prática (KIST *et al*., 2019).

Nos últimos trinta anos, a indústria mundial de olivas também sofreu uma profunda renovação operacional, concentrada, quase que a totalidade, na mecanização da gestão do cultivo. Visto que os principais fatores que podem contribuir para a redução dos custos de produção são o aumento da área de cultivo e a mecanização das duas únicas técnicas de cultivo ainda realizadas manualmente, que são a colheita e a poda.

Neste sentido, a mecanização na agricultura é, de fato, um fator importante para a produtividade e competitividade, especialmente em países com altos custos de mão de obra, como o Brasil. Logo, a redução destes custos já é prioridade em alguns países, principalmente nos que a cultura ainda é colhida manualmente.

No entanto, em muitos países tradicionais no cultivo de oliveiras, o percentual de adoção de colheita mecanizada ainda é baixo. E não se pode desprezar a importância que os métodos ainda utilizados possuem, mesmo os mais primitivos. Deste modo, nas seções seguintes serão apresentadas as principais técnicas de colheita de olivas, e qual é o atual cenário de mecanização para esta atividade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho constitui-se de uma revisão narrativa, descrita por Rother (2007), e baseada em Botelho, Cunha e Macedo (2011). De acordo com o objetivo do estudo, a revisão compreendeu a descrição do estado da arte do cultivo de oliveiras com enfoque no processo de colheita, sob o ponto de vista teórico ou contextual.

A pesquisa foi desenvolvida entre julho e dezembro de 2019, período no qual foram realizadas consultas on-line, livros, periódicos e em artigos científicos, por meio de acesso ao portal de Periódicos da Capes, Scientific Electronic Library Online (SciELO), Science Direct e Google Acadêmico.

Para a análise dos dados, fez-se uma leitura aprofundada dos trabalhos encontrados, uma vez que a interpretação e posterior análise crítica pessoal visou a atualização de conhecimento sobre o referido tema em curto período de tempo, através de informações qualitativas, características que, segundo Bernardo, Nobre e Janete (2004), são intrínsecas da revisão narrativa.

3. ANÁLISES

3.1. COLHEITA

A colheita é a etapa final do processo de produção, e com ela é encerrado o ciclo anual de cultivo. É uma fase particularmente delicada do ciclo de produção, que se mal executada, pode afetar os esforços realizados ao longo de todo o cultivo, impactando negativamente na quantidade e na qualidade final da produção na safra (EMBRAPA, 2016). Entre as diferentes fases do ciclo de produção, a colheita é capaz de abranger de 30 % a 60 % dos custos totais de produção (CATALÁN, 2009). Ainda, é sem dúvida, a fase que requer mais mão de obra, podendo atingir até 80 % dos gastos, quando somada à atividade de poda.

O início da colheita varia com a influência de diversos fatores, entre eles o clima, microclima, variedade e destino da produção (azeites ou azeitonas de mesa) (GOMES, 1979). Os frutos destinados ao consumo de mesa são colhidos antes da maturação completa, enquanto que os destinados a extração de azeite são colhidos mais tardiamente (maduros). Logo, é importante conhecer o ponto ótimo de colheita antes do início dessa etapa.

Quando o destino da produção é voltado a azeitonas de mesa, diferenciam-se basicamente pelo seu grau de maturação e pela coloração no momento e após a sua elaboração, se dividindo em quatro tipos:

I) Azeitonas verdes – colhidas quando atingem seu tamanho final ainda verdes, antes do início do amadurecimento do fruto (coloração variando do verde ao amarelo-palha);

II) Azeitonas de coloração intermediária – colhidas com coloração rosada, castanha ou vinho, elaboradas antes de seu completo amadurecimento;

III) Azeitonas pretas – colhidas e elaboradas no seu estado completo de maturação (coloração totalmente preta);

IV) Azeitonas pretas por oxidação – colhidas e elaboradas sem terem atingido o ponto final de maturação (pretas), sendo enegrecidas por processo de oxidação.

Quando o destino da produção é voltado a extração de azeite, a colheita das azeitonas deve ser realizada no período de maturação máxima, ou seja, quando estiver formado todo o azeite no fruto, aproximadamente entre 28 e 30 semanas após a plena floração (coloração arroxeada, restando poucos frutos verdes na árvore, quando há predominância dos que estão pintando ou os negros) (EPAMIG, 2012).

A variação de cor permite estabelecer facilmente o índice de maturação, classificando- se 100 frutos em oito categorias, a partir da coleta de 2 kg de azeitonas, colhidas a altura do colhedor e nos quatro quadrantes da planta (Tabela 1).

Tabela 1 – Classes para cálculos do índice de maturação ideal para a colheita de azeitonas destinadas à produção de azeite.

Classes	Características de pele e polpa
0	Epiderme verde intenso
1	Epiderme verde-amarelada
2	Epiderme verde com manchas avermelhadas em menos da metade do fruto
3	Epiderme avermelhada ou arroxeada em mais da metade do fruto
4	Epiderme preta e polpa branca
5	Epiderme preta e polpa arroxeada sem chegar à metade da polpa
6	Epiderme preta e polpa arroxeada sem chegar ao caroço
7	Epiderme preta e polpa totalmente arroxeada

Nota: Para o cálculo do índice de maturação (IM), utiliza-se a seguinte equação: IM=[(A.0)+(B.1)+(C.2)+(D.3)+(E.4)+(F.5)+(G.6)+(H.7)]/100 em que: A, B, C, D, E, F, G e H = o número de frutos nas diferentes classes; 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 = número de classes.
Fonte: EMBRAPA, 2016.

Segundo a EMBRAPA (2016), o maior conteúdo de azeite no fruto ocorre quando o índice de maturação está entre as classes 3 e 4, sendo que na classe 5, o conteúdo de azeite já começa a perder qualidade. Portanto, pode-se estabelecer o ponto 3,5 do índice de maturação, como o melhor momento para realizar a colheita (EPAMIG, 2012), variando entre o final de março até o início de junho (maturação gradual).

Na Tabela 2 são apresentadas outras variáveis e considerações inerentes ao cultivo de oliveiras, essenciais para a produção deste cultivo em território brasileiro.

Tabela 2 - Variáveis intrínsecas ao cultivo de oliveiras.

Variável	**Consideração**
Temperatura média ideal	Entre 25 e 35 °C*
Umidade relativa	Entre 60 e 80 %
Solos	Textura média (profundidade entre 0,50 e 1,20 m)
Densidade de plantio	Cultivo tradicional (60 a 200 árvores ha^{-1})
	Cultivo intensivo (300 a 600 árvores ha^{-1})
	Cultivo super intensivo (900 a 2000 árvores ha^{-1})
Época de plantio	Setembro (início das chuvas)
Época de poda	Entre abril e maio
Época de florescimento	A partir de agosto
Época de colheita	A partir de março
Requerimento hídrico anual	650 mm
Início da produção	A partir do quarto ano
Custo de implantação	R$ 10.000,00 a R$ 18.000,00 por hectare

*O cultivo de oliveiras exige aproximadamente 450 horas de frio com temperaturas abaixo de 12 °C e temperatura total acumulada de 5000 ºC durante o transcurso de suas fases vegetativas.
Fonte: (COUTINHO *et al*., 2016; KIST *et al*., 2019).

3.2 MÉTODOS DE COLHEITA

3.2.1. COLHEITA MANUAL

Consiste na colheita individual dos frutos ou aos cachos, com uso da mão, através do auxílio de escadas ou plataformas para alcançar os ramos mais altos (Figura 1). Considerado por muitos o melhor método, pois permite selecionar o fruto já na colheita e ainda evita que o mesmo sofra impactos.

Este método é utilizado principalmente para a colheita de azeitonas de mesa, mas também é usualmente adotado na colheita de oliveiras muitos jovens. Se a azeitona se destina à mesa, os frutos são depositados num recipiente carregado pelo coletor, onde uma vez cheio, é esvaziado em caixas para posterior transporte. Quando se destina à extração de azeite, usualmente estendem-se lonas ou redes plásticas sob à copa das oliveiras, para recolher os frutos que caem, ou mesmo os que são jogados ao chão.

Figura 1 – Colheita manual de azeitonas.

Fonte: EPAMIG, 2012.

A colheita manual também pode ser realizada com o auxílio de ferramentas manuais, como ancinhos de material plástico, madeira ou metal (Figura 2).

Figura 2 – Ferramentas manuais (ancinhos).

Fonte: OLIVAPEDIA, 2019.

3.2.2. APANHA

É um método primitivo que consiste em recolher do solo as olivas já caídas da árvore, em estado de amadurecimento muito avançado. Este método pode ser realizado manualmente, ou com auxílio de ferramentas como ancinhos, vassouras com pá para azeitonas e sopradores de folhas (Figura 3).

Figura 3 – Ferramentas para apanhar azeitonas no solo.

Fonte: OLIVAPEDIA, 2019.

3.2.3. VAREIO

O método de vareio consiste em golpear a copa da planta com uma haste que pode ter entre 0,80 m e 4 m de comprimento, em função da necessidade e da preferência da pessoa que a utiliza, fazendo com que as azeitonas caiam nas malhas de material plástico, colocadas previamente debaixo das árvores (Figura 4). As hastes atualmente utilizadas são de fibra de vidro, mais resistentes, leves e flexíveis.

Figura 4 – Método de vareio para colheita de azeitonas.

Fonte: OLIVAPEDIA, 2019.

No vareio brutal, bate-se nos ramos indiscriminadamente, sem qualquer preceito ou precaução. O vareio suave é feito batendo ao correr dos ramos ou de lado, com apenas a força indispensável para fazer cair os frutos e de forma a não quebrar os novos ramos das oliveiras.

3.2.4. COLHEITA SEMI-MECANIZADA

A colheita manual, juntamente com o uso de outros sistemas de colheita, como pentes vibratórios e vibradores de ramo, aumenta o desempenho operacional até um determinado ponto. No entanto, os sistemas de colheita manual não podem ser considerados de colheita mecânica, por que apenas removem os frutos e não são capazes de integrar sistemas de recolha dos mesmos. Contudo, estas técnicas aceleram a colheita, reduzindo a necessidade de mão de obra em 30 a 40 %, podendo ser utilizadas em qualquer forma e tipo de árvores, e para cultivos de até mil oliveiras.

3.2.4.1. PENTE VIBRATÓRIO

Baseia-se no vareio tradicional, utilizando vara mecânica com pentes vibratórios na extremidade, que golpeiam as azeitonas até que estas caiam sobre malhas poliméricas previamente depositadas sob as oliveiras. A vantagem em relação ao vareio está relacionada à rentabilidade com menor esforço, menos danos aos ramos e às azeitonas.

Estas ferramentas também são chamadas de derriçadeiras. Neste equipamento, um pequeno motor é responsável por gerar movimento para o braço, que transmite força motriz para uma espécie de pente (Figura 5), provocando agitação na área onde estão localizados os frutos.

São equipados com motores elétricos ou de combustão de 25 a 50 cm³, caracterizando- se como equipamentos leves, com cerca de 10 kg. Sendo geralmente utilizados como complemento à vibração mecânica de grandes vibradores (acoplados a tratores), para realizar o acabamento onde a vibração não foi suficiente para derrubar os frutos (CATALÁN, 2009).

Figura 5 – Colheita com pente vibratório.

Fonte: OLIVAPEDIA, 2019.

3.2.4.2. VIBRADOR DE RAMOS

São amplamente utilizados e constituem uma alternativa para explorações em áreas de cultivo de até mil oliveiras. Estes equipamentos são capazes de gerar movimento de vibração em ramos secundários com até 6 cm de diâmetro. São acionados por motores à gasolina, dois tempos, com cerca de 50 cm³, que geram força motriz responsável por movimentar uma haste com a ponta em formato de gancho que pode segurar um ramo de até de 3 m de comprimento (Figura 6). O mecanismo é do tipo virabrequim e transmite uma vibração de cerca de 600 ciclos min^{-1}, possibilita uma operação eficiente, com danos mínimos às oliveiras (CATALÁN, 2009).

Figura 6 – Funcionamento de um vibrador de ramos.

Fonte: OLIVAPEDIA, 2019.

3.2.5 COLHEITA MECANIZADA

3.2.5.1. VIBRADORES DE TRONCOS

Consiste em um braço mecânico que segura o tronco, fazendo-o vibrar e é sem dúvidas, o sistema mais utilizado (Figura 7). Os sistemas mais comuns usados para alcançar a vibração são o sistema de vibração multidirecional e orbital. Os últimos avanços têm projetado vibradores que vibram em várias direções, sentidos, amplitudes e frequências, aumentando significativamente a percentagem de frutos derrubados na colheita (REFERÊNCIA, XXXX).

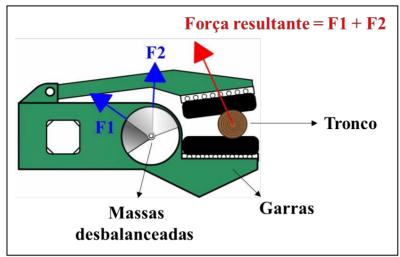
Figura 7 – Vibrador de troncos.

Fonte: OLIVAPEDIA, 2019.

Importante ressaltar que o sistema de garras que envolve o tronco da árvore, possui controle automático de pressão das pinças, transmitindo a vibração originada pela inércia das massas, sem danificar a oliveira.

3.2.5.1.1. COM VIBRAÇÃO MULTIDIRECIONAL

O princípio de funcionamento consiste em duas massas desbalanceadas e desequilibradas que giram em direções opostas e em diferentes velocidades angulares, devido à ação de um ou dois motores hidráulicos (*CATALÁN, 2009*). Deste modo, geram uma força variável em módulo, direção e sentido, que provoca a vibração multidirecional desejada (Figura 8). Neste sistema, a eficiência da colheita é superior a 90 %, sendo indicado para cultivos de 2 mil a 6 mil oliveiras.

Figura 8 – Esquema de vibração multidirecional.

Fonte: CATALÁN, 2019.

3.2.1.1.2. COM VIBRAÇÃO ORBITAL

O princípio de funcionamento é semelhante aos vibradores multidirecionais, mas consiste em apenas uma massa excêntrica que, ao entrar em movimento de rotação, gera uma força centrífuga com direção radial, dando origem a um movimento orbital. Sua eficiência de colheita é cerca de 10 a 12 % superior em comparação aos vibradores multidirecionais, no entanto, demandam maior potência para tal (CATALÁN, 2009).

Embora os modelos de vibradores multidirecionais e orbitais sejam muito semelhantes, os sistemas responsáveis pela recepção dos frutos colhidos podem ter princípios de funcionamento diferentes. Essa variação compreende desde a técnica de colheita tradicional, onde são estendidas telas ou malhas sob a copa das árvores, previamente à derrubada dos frutos, à até receptores de azeitona com sistema de plano inclinado (Figura 9). Estes sistemas consistem em duas máquinas, operando uma em cada lado da linha de cultivo, sendo uma composta com vibrador de troncos, esteira transportadora e um grande plano retangular inclinado, e outra composta por um plano retangular superior.

Essas duas máquinas formam uma superfície fechada, sobre a qual o fruto colhido cai e é conduzido até a esteira transportadora, que deposita os frutos em um reservatório. Antes de chegar no reservatório, um ventilador faz a pré-limpeza de folhas e material leve derrubados durante a vibração.

Figura 9 – Vibrador de troncos com sistema de recepção do tipo plano inclinado.

Fonte: OLIVAPEDIA, 2019.

Além desses, há ainda outro sistema de recepção comum entre os olivicultores, chamado de guarda-chuva invertido (Figura 10). Este sistema consiste em montar nas laterais do chassi que suporta o vibrador, uma estrutura semelhante às hastes de um guarda-chuva, que movidas hidraulicamente, giram sobre um ponto de apoio e arrastam uma lona que se fecha em volta de toda a superfície da copa da árvore. Os frutos colhidos, caem sobre a lona e são conduzidos à uma tremonha, que permite ao operador realizar o descarregamento destes, assim que o nível máximo do reservatório for atingido.

Figura 10 – Vibrador de troncos com sistema de recepção tipo guarda-chuva invertido.

Fonte: OLIVAPEDIA, 2019.

3.2.5.2. COLHEDORAS AUTOMOTRIZES

Numa tentativa de melhorar o desempenho dos referidos sistemas anteriores, em muitas regiões olivícolas foram desenvolvidas novas gerações de máquinas de colheita contínua e integral. Estas máquinas foram adaptadas para a colheita de olivais em sistemas adensados, possibilitando a colheita de azeitonas em lavouras com plantas de até 4 metros de diâmetro e 4,5 metros de altura total (Figura 11), impondo menos restrições aos cultivos e reduzindo a frequência das podas em variedades com maior vigor vegetativo.

Figura 11 – Colhedora automotriz Colossus (4 m x 4,5 m).

Fonte: OLIVAPEDIA, 2019.

A elevada altura dessas máquinas permite sua movimentação sobre a plantação, fazendo as árvores tremerem e acumularem os frutos que são derrubados em um compartimento próprio. A derrubada dos frutos é realizada através de batedores, fabricados em material flexível com formato de arco. As extremidades dos batedores são fixadas em ambos os lados e são mantidas a uma distância fixa do centro da máquina. Possuem sistemas de recolha de baldes ou esteiras, composto por dois transportadores.

Contudo, alguns modelos somente trabalham de forma eficiente em árvores jovens de altura não superior a 3 metros, requerendo por vezes uma forma adequada de copa (Figura 12). Ainda assim, em ambos os modelos, a remoção do fruto é bastante elevada (cerca de 95 %), até mesmo em variedades com azeitonas pequenas. Sendo sua velocidade de trabalho entre 0,5 e 1,5 km h^{-1}.

Figura 12 – Colhedora automotriz New Holland (3,13 m x 2,8 m).

Fonte: OLIVAPEDIA, 2019.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os métodos de colheita manuais requerem abundância em mão de obra devido a sua baixa eficiência operacional, podendo tornarem-se limitantes em regiões onde há escassez de trabalhadores para exercer essa atividade. A colheita mecanizada é uma alternativa a este problema, visto que pode causar redução nesta demanda, e consequente redução dos custos de produção. No entanto, requer mão de obra especializada e dimensões adequadas de área cultivada para que se torne viável. Além disso, a escolha do método de colheita ideal irá depender do objetivo de produção, bem como do capital investido.

REFERÊNCIAS

BERNARDO, W. M; NOBRE, M. R. C; JANETE, F. B. A prática clínica baseada em evidências. Parte II: buscando as evidências em fontes de informação. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v.50, n. 1, p. 1-9, 2004.

BOTELHO, L. L. R.; CUNHA, C. C. de A.; MACEDO, M. O método da revisão integrativa nos estudos organizacionais. **Gestão e Sociedade**. Belo Horizonte, v.5, n. 11, p. 121-136, 2011. ROTHER, E. T. Revisão sistemática x revisão narrativa. **Acta Paulista de Enfermagem**, São Paulo, v.20, n. 2, p. 5-6, 2007.

CATALÁN, H. La recolección de la aceituna y su incidencia en la rentabilidad del olivar **Revista Agropecuária**. 2009.

COUTINHO, E. F. et al. (org.). **Oliveira:** aspectos técnicos e cultivo no Sul do Brasil. Brasília: EMBRAPA, 2015. 196 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Oliveira: aspectos técnicos e cultivo no Sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2016.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS - EPAMIG. **Oliveira no Brasil: tecnologias de produção**. Belo Horizonte, MG: Epamig, 2012. GOMES, R. P. **A olivicultura no Brasil**. São Paulo, SP: Nodel, 1979. IBRAOLIVA – Instituto Brasileiro de Olivicultura. Disponível em:<https://www.ibraoliva.com.br/>. Acesso em: out. 2019.

KIST, B. B. et. tal. Pioneirismo em grande estilo. Anuário Brasileiro das Oliveiras. **Gazeta:** Santa Cruz do Sul, 2019.

OLIVAPEDIA – **Um blog para os entusiastas das oliveiras, azeites e azeitonas**. Disponível em: < https://olivapedia.com/page/2/>. Acesso em: out. 2019.

VILAR J.; PEREIRA, J. E. **La olivicultura internacional Difusión histórica, análisis estratégico y visión descriptiva**. Fundación Caja Rural de Jaén. Espanhã, 2018. Disponível em: Acesso em set. 2019.

CAPÍTULO 02

APRIMORAMENTO DO ENSAIO FITOTOXICOLÓGICO COM GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ALFACE: CONFIABILIDADE E ACURÁCEA DO MÉTODO.

Pablo Machado Mendes
Doutorando em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-Rio-Grandense, Campus Pelotas Visconde da Graça-CAVG.
Endereço: Rua Coronel Alberto Rosa nº 212, Centro, 96070-770, Pelotas/RS, Brasil.
E-mail: pablomachadomendes@gmail.com

José Carlos Poppl Neto
Doutorando em Sistemas de Produção Agrícola Familiar pela Universidade Federal de Pelotas Instituição: Universidade Federal de Pelotas
Endereço: PPGSPAF - Campus Universitário, S/N, 96160-000, Capão do Leão/RS
E-mail: poppl86@hotmail.com

Luana Braiz Gonçalvez
Gestora Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, Campus Pelotas Visconde da Graça
Instituição: Secretaria de Qualidade Ambiental - Prefeitura Municipal de Pelotas
Endereço: Av. Engenheiro Ildefonso Simões Lopes, 2791 - Bairro Três Vendas, CEP 96060-290, Pelotas/RS
E-mail: luanabraizg@gmail.com

Simone Czermainski Macedo
Gestora Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, Campus Pelotas Visconde da Graça
Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, Campus Pelotas Visconde da Graça
Endereço: Av. Engenheiro Ildefonso Simões Lopes, 2791 - Bairro Três Vendas, CEP 96060-290, Pelotas/RS
E-mail: simone.macedo630@gmail.com

Thayli Ramires Araujo
Doutoranda em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Catarina
Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina
Endereço: Rua Bioterio Central S/N, Bairro Corrego Grande, Florianópolis/SC
E-mail: thayliraraujo@gmail.com

Alanderson Larroza Rodrigues
Graduando no Curso Superior de Tecnologia em Viticultura e Enologia pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, Campus Pelotas Visconde da Graça Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, Campus Pelotas Visconde da Graça
Endereço: Av. Engenheiro Ildefonso Simões Lopes, 2791 - Bairro Três Vendas, CEP 96060-290, Pelotas/RS
E-mail: alanlarroza@icloud.com

Luciara Bilhalva Corrêa
Doutora em Educação Ambiental pela Fundação Universidade Federal de Rio Grande
Instituição: Universidade Federal de Pelotas
Endereço: CEng - Praça Domingos Rodrigues, Centro, CEP 96010-450, Pelotas/RS
E-mail: luciarabc@gmail.com

Érico Kunde Corrêa
Doutor em Biotecologia pela Universidade Federal de Pelotas Instituição: Universidade Federal de Pelotas
Endereço: CEng - Praça Domingos Rodrigues, Centro, CEP 96010-450, Pelotas/RS
E-mail: ericokundecorrea@yahoo.com.br

RESUMO: O objetivo deste estudo consistiu em avaliar diferentes variações na metodologia de fitotoxicidade com germinação de sementes de alface com o intuito de avaliar se as diferenças entre os ensaios (tratamentos) testados poderiam ser motivo de preocupação, já que diferentes grupos de pesquisa utilizam variações diferentes, sempre citando o método em que se basearam, mas com adaptações. Conclui-se que algumas adaptações no ensaio de fitotoxicidade não demonstraram confiabilidade segundo critérios de interesse.

PALAVRAS-CHAVE: Fitotoxicidade, Alface, Lactuca sativa, Ecotoxicologia, Toxicidade aguda.

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate different variations in the phytotoxicity methodology with lettuce seed germination in order to assess whether the differences between the tests (treatments) tested could be of concern, since different research groups use different variations, always citing the method in which they based, but with adaptations. It is concluded that some adaptations in the phytotoxicity test did not demonstrate reliability, according to criteria of interest.

KEYWORDS: Phytotoxicity, Lettuce, Lactuca sativa, Ecotoxicology, Acute toxicity.

1. INTRODUÇÃO

A análise de fitotoxicidade vem sendo empregada na avaliação de compostos, biossólidos, efluentes industriais, efluentes de biorreatores anaeróbicos e qualidade de águas de origens distintas, a fim de analisar o efeito destes sobre o crescimento radicular de diferentes espécies de plantas (ZUCCONI *et al*., 1981; TIQUIA; TAM, 1998; CHARLES *et al*., 2011; YOUNG *et al*., 2012; MENDES *et al*., 2016, GERBER, *et al*. 2017).

Os ensaios fitotoxicológicos com germinação de sementes tem sido bastante utilizados atualmente como indicadores de poluição ambiental por causa da simplicidade e economicidade proporcionada pelo método em comparação com outros tipos de análises e apesar de não ser possível identificar diretamente qual composto está conferindo o caráter tóxico, esse teste consegue comparar níveis de toxicidade através do comprimento e porcentagem de germinação das sementes, compondo um índice, o IG (índice de germinação), que é inversamente proporcional ao nível de toxicidade das amostras testadas. Quanto menor o IG maior a toxicidade do composto analisado, justamente por inibir totalmente ou parcialmente o crescimento das raízes das sementes.

Apesar da importância desse tipo de análise, ainda não existe um padrão a ser seguido como uma norma da ABNT ou NBR. Isso não quer dizer que essa padronização não é necessária, muito pelo contrário, a cada dia mais autores (RAMANA *et al*., 2002; AVIANI *et al*., 2010; ÖZKARA *et al*., 2011; MITELUT e POPA, 2011; KHAN *et al*., 2014, GERBER *et al*., 2017, MENDES *et al*., 2016) utilizam essa técnica para classificar o nível de toxicidade em suas amostras e fazem adaptações aos métodos atualmente encontrados nos artigos científicos. É necessário uma padronização para que se tenha um protocolo padrão afim de gerar uma norma técnica ou metodologia padrão, comparável as indicadas para outras análises, como por exemplo no "standard methods for the examination of water and wastewater" ou NBRs ou ABNTs.

Análises de toxicidade são raramente exigidas pelos órgãos ambientais, o que parece ser um erro, já que testes como o de germinação com sementes são econômicos e fáceis de serem implementados pela maioria dos laboratórios credenciados pelos órgãos ambientais e trazem a resposta global que mais importa: o nível de toxicidade da amostra analisada. O ensaio de fitotoxicidade com sementes de alface (*Lactuca sativa*) se destaca por ser um teste rápido, confiável, econômico e

de fácil implementação (CHARLES *et al*., 2011). A semente de alface é indicada como bioindicador para avaliar riscos potenciais no ambiente segundo a US Enviromental Protection Agency (EPA), para a detecção de efeitos ecotoxicológicos (Johnson et al., 2015).

O objetivo deste estudo consistiu em avaliar diferentes variações na metodologia de fitotoxicidade com germinação de sementes de alface com o intuito de criar um método padrão confiável.

2. METODOLOGIA

Baseado nas pesquisas em artigos que utilizaram métodos de germinação de sementes, foi elaborada a Figura 1 com as variações testadas. Todas as metodologias foram testadas em quintuplicata, com água destilada. Os cálculos dos IGs levam em consideração o branco quando se incuba amostras, mas nesse caso em específico não existe branco pois as próprias amostras são os padrões. Nesse caso foi utilizada a comparação de desvio padrão e análise de variância (que representa o quadrado do desvio padrão) para cada tratamento.

Figura 1: Tratamentos aplicados/Delineamento experimental

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16
Temp.	25	25	25	25	25	25	25	25	20	20	20	20	20	20	20	20
T.A.	1min	1min	1h	1h+1h[1]	1h	1h	1min	1h	1min	1min	1h	1h+1h[1]	1h	1h	1min	1h
T.R.	24h	Over	Over	Zero	Zero	Zero	Over	Over	24h	Over	Over	Zero	Zero	Zero	Over	Over
Vol.	4	4	4	5	4	5	2,5	5	4	4	4	5	4	5	2,5	5
T.P.	90	90	90	90	90	90	60	90	90	90	90	90	90	90	60	90

*T1, T2, T3... = diferentes tratamentos
*Temp. = Temperatura de incubação, em graus Celsius (ºC)
*T.A. = Tempo de Agitação
*T.R. = Tempo de Repouso
*Vol. = Volume de amostra a ser colocado em cada placa, em mL
*T.P. = Tamanho da Placa de petri
*Over = Overnight (de 16 a 18h, aproximadamente)
[1] = com 1h de repouso entre as agitações

N = 80 placas com 10 sementes cada, totalizando 800 sementes de alface (Variedade Giovana com 100% de taxa de germinação)

Fonte: Os Autores

Em relação aos procedimentos, baseado em MENDES et al., 2016 e em CHARLES *et al*., 2011, promoveu-se as variações de temperatura, volume de amostra na placa, tamanho da placa, tempo de repouso e tempo de agitação. Os cálculos do desvio padrão e variância foram feitos para cada tratamento. A comparação foi realizada através da classificação dos tratamentos, do menor valor de desvio padrão para o maior, o que pode ser conferido na Tabela 1.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação a germinação relativa, a Tabela 1 demonstra como se comportou cada tratamento. Quando se pensa em padronização de método de germinação de sementes como bioindicador de poluição ambiental, algumas coisas são importantes como o fato de 100 % das sementes germinarem no padrão com água destilada, já que não existe inibição nesse caso. A resposta biológica esperada é a de que todas as sementes germinassem no branco (padrão, testemunha, etc.) pois sempre é utilizada água destilada, apenas. Percebe-se nos dados da Tabela 1, que os tratamentos T1, T2, T3, T4, T5, T9, T10, T11, T12 e T14 obtiveram 100 % de germinação, ou seja, a média das sementes nas 5 repetições foi de 10, já que 10 sementes do total de 10 germinaram em cada uma das 5 placas da repetição. Esses tratamentos foram preferidos, como sendo um primeiro passo na determinação da escolha do método a ser indicado como método padrão de análise de fitotoxicidade com sementes de alface.

É imprescindível que um método padrão para qualquer tipo de análise proporcione o mínimo de variação entre suas repetições, obtendo assim o menor desvio padrão possível.

Tabela 1 - Média das sementes germinadas e do Alongamento e Desvio Padrão e Variância do Alongamento das sementes entre repetições de cada tratamento.

Amostra	Média Germ.	Média Along.	Desvio Padrão	Variância	Classificação
T1	10	166.19	9.96	99.25	4
T2	10	154.44	16.18	261.67	7
T3	10	150.65	11.85	140.49	6
T4	10	132.95	18.96	359.30	13
T5	10	115.26	17.02	289.54	10
T6	9.6	128.31	16.49	272.06	9
T7	8.8	115.66	18.59	345.48	12
T8	9.2	116.45	28.99	840.25	16
T9	10	110.84	2.94	8.65	1
T10	10	116.44	10.24	104.88	5
T11	10	112.59	16.49	271.96	8
T12	10	116.54	20.32	412.82	14
T13	9.8	119.60	9.20	84.63	3
T14	10	121.16	17.36	301.25	11
T15	9.6	94.81	6.48	41.99	2
T16	9.4	78.50	20.19	407.46	15

Fonte: Os Autores.

O alongamento de raiz foi colocado em segundo plano, visto que essa classificação como critério principal não faz sentido quando se busca uma padronização de método, da mesma forma que se pensa quando se obtém uma certificação ISO9000, ou seja, não importa o que se produz, se é bom ou ruim, só importa que se produz sempre a mesma coisa, com desvio padrão e variância dentro de limites estabelecidos pelas normas, geralmente sendo valores mínimos.

Percebe-se que existe grande diferença entre os valores de todos os tratamentos, sendo que o T9 obteve tanto o menor Desvio Padrão quanto a menor Variância. A diferença entre os Desvios Padrões do T9 (classificado como 1) e o T15 (classificado como 2) foi de 220,41 % (T15 maior do que o T9). Para as diferenças de variância entre os mesmos tratamentos temos que o T15 foi 485,43 % maior do que o T9. As diferenças só aumentam do T9 em relação aos valores dos tratamentos classificados acima de 3, chegando ao aumento de 986,05 % para o Desvio Padrão

do T9 em relação ao T8 (pior tratamento segundo os critérios adotados). Já para a Variância, esse valor sobe, sendo o T8 9.713,87 % maior do que o T9.

4. CONCLUSÃO

Constatou-se diferença entre as metodologias (tratamentos) aplicadas, comprovando que deve-se aprofundar cada vez mais o conhecimento sobre a utilização de sementes como bioindicadores, de maneira que métodos com maior credibilidade, ou seja, que obtenham valores baixos de desvio padrão e variância sejam preferidos. Dentre os métodos utilizados, destaca-se o T9 (1 minuto de agitação com bastão de vidro, tempo de repouso de 24h na ausência de luz, placa de 9cm, 4mL de amostra na placa, 20°C de temperatura de incubação), que obteve os melhores resultados, de 2,94 para o desvio padrão e 8,65 para a variância.

REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 20 ed. Washington: APHA, 1998, 937p.

Aviani, I., Laor, Y., Medina, S., Krassnovsky, A., Raviv, M., 2010. Co-composting of solid and liquid olive mill wastes: management aspects and the horticultural value of the resulting composts. Bioresour. Technol. 101, 6699–6706.

Charles, J., Sancey, B., Crini, M.N., Badot, P., Degiorgi, F., Trunfio, G., Crini, G., 2011. **Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated industrial effluents using the lettuce plant (Lactuca sativa) as a bioindicator**. Ecotoxicol. Environ. Saf. 74, 2057–2064.

Johnson, M., T. Shiroyama, D. Olszyk, AND J. Novak. **A Quick-Test for Biochar Effects on Seed Germination.** Soil Science of America Annual Meeting, Minneapolis, MN, November 15 - 18, 2015. Office of Research and Development Publications/EPA-USA. Disponível em https://cfpub.epa.gov/ecotox/, acesso em 9 de outubro de 2017.

Khan, N., Clark, I., Sánchez-Monedero, M., Shea, S., Meier, S., Bolan, N., 2014. **Maturity indices in co-composting of chicken manure and sawdust with biochar.** Bioresour. Technol. 168, 245– 251.

Mendes, P.M., Becker, R., Corrêa, L.B., Bianchi, I., Dai Prá, M.A., Lucia Jr., T., Corrêa, E.K., 2016. **Phytotoxicity as an indicator of stability of broiler production residues.** J. Environ. Manag. 167, 156–159.

Mitelut, A., Popa, M., 2011. **Seed germination bioassay for toxicity evaluation of different composting biodegradable materials.** Roman. Biotechnol. Lett. 16, 121–129 (Suppl.).

Ramana, S., Biswas, A., Kundu, S., Saha, J.K., Yadava, R.B., 2002. **Effect of distillery effluent on seed germination in some vegetable crops.** Bioresource Technol. 82, 273–275.

Tiquia S. M. and N. F. Y. Tam (1998). **Elimination of phytotoxicity during co-composting of spent pig manure sawdust litter and pig sludge**. Bioresource Technology, 65: 43–9.

Young, B.J., Riera, N.I., Beily, M.E., Bres, P.A., Crespo, D.C., 2012. **Toxicity of the effluent from an anaerobic bioreactor treating cereal residues on Lactuca sativa**. Ecotoxicol. Environ. Saf. 76, 182–186.

Zucconi, F., Pera, A., Forte,M., Bertoldi, M., 1981. **Evaluating toxicity in immature compost.** Biocycle 22, 54–57.

CAPÍTULO 03

PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DAS BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS ISOLADAS NA REGIÃO NORTE DO PARANÁ.

Amanda Giazzi
Mestre em Tecnologia de Alimentos
Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Londrina
Endereço: Avenida dos Pioneiros, 3131, Bairro Morumbi, Londrina-PR, Brasil.
E-mail: amandagiazzi@gmail.com

Natara Fávaro Tosoni
Mestre em Tecnologia de Alimentos Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Medianeira
Endereço: Avenida Brasil, 4232, Bairro Independência, Medianeira – PR, Brasil.
E-mail: nataratosoni@gmail.com

Marina Levorato de Moraes
Mestranda em Tecnologia de Alimentos.
Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Londrina
Endereço: Avenida dos Pioneiros, 3131, Bairro Morumbi, Londrina-PR, Brasil.
E-mail: marina_levorato@hotmail.com

Luciana Furlaneto-Maia
Doutora em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Paraná.
Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Londrina
Endereço: Avenida dos Pioneiros, 3131, Bairro Morumbi, Londrina-PR, Brasil.
E-mail: lucianamaia@utfpr.edu.br

Marly Sayuri Katsuda
Doutora em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina,
Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Londrina
Endereço: Avenida dos Pioneiros, 3131, Bairro Morumbi, Londrina-PR, Brasil.
E-mail: sayuri@utfpr.edu.br

RESUMO: O consumo regular de produtos lácteos fermentados tem aumentado ao longo dos anos, principalmente fermentados com sabor e texturas diferenciadas. Neste estudo avaliamos o potencial tecnológico de 14 isolados bacterianos pertencentes ao grupo de bactérias ácido láticas; os isolados consistiram dos gêneros *Enterococcus, Lactococcus, Lactobacillus, Streptococcus* e *Pediococcus*. Os isolados foram avaliados quanto a atividade enzimática proteolítica e lipolítica *in vitro*, sensibilidade a antibióticos, atividade antagônica contra patógenos alimentares e capacidade de acidificação. Os isolados não apresentaram atividade proteolítica no substrato testado, porém houve atividade lipolítica. Todos os isolados apresentaram atividade acidificante em temperaturas de 20 °C e 37 °C, com 48 hs de incubação. Os melhores resultados de atividade lipolítica ocorreram a partir de 120 hs de incubação a 37°C. Todos os isolados foram sensíveis à vancomicina e resistentes a estreptomicina. A maioria das BALs em estudo foi capaz de inibir o crescimento dos patógenos *E. coli* enteropatogênica, *Salmonella enteritides, Listeria innocua* e *Listeria*

monocytogenes. A acidez titulavel e variação do pH ocorreu de forma isolado-dependente de acordo com tempo e temperatura de incubação, sendo que na média os melhores resultados foram obtidos a 37 °C com 48 hs de incubação. Este estudo permitiu observar que a maioria das espécies apresentaram atividade tecnológica para produção de queijos e algumas possuem aptidão para a produção de leite fermentado.

PALAVRAS-CHAVES: Atividade antagônica. Resistência ao antibiótico. Fermentação.

ABSTRACT: The regular consumption of fermented dairy products has increased over the years, mainly fermented with different flavor and textures. In this study, we evaluated the technological potential of 14 bacterial isolates belonging to the group of lactic acid bacteria; the isolates consisted of the genera *Enterococcus*, Lactococcus, Lactobacillus, Streptococcus and Pediococcus. The isolates were evaluated for proteolytic and lipolytic enzymatic activity in vitro, sensitivity to antibiotics, antagonistic activity against food pathogens and acidification capacity. The isolates did not show proteolytic activity on the tested substrate, but there was lipolytic activity. All isolates showed acidifying activity at temperatures of 20 °C and 37 °C, with 48 hours of incubation. The best results of lipolytic activity occurred after 120 h of incubation at 37 °C. All isolates were sensitive to vancomycin and resistant to streptomycin. Most of the BALs under study were able to inhibit the growth of *E. coli* enteropatho genic pathogens, *Salmonella enteritides, Listeria innocua* e *Listeria monocytogenes*. Titratable acidity and pH variation occurred in an isolated-dependent manner according to incubation time and temperature, with the best results averaging at 37 °C with 48 hours of incubation. This study allowed to observe that the majority of the species presented technological activity for cheese production and some have aptitude for the production of fermented milk.

KEYWORDS: Antagonistic activity. Antibiotic resistance. Fermentation.

1. INTRODUÇÃO

As bactérias do ácido lático (BAL) abrangem um amplo grupo de microrganismos em formato de cocos ou bacilos Gram positivas, não formadoras de esporos, catalase e oxidases negativas e anaeróbias facultativas (GIRAFFA, 2003). Podem ser homofermentativas, quando produzem ácido lático, ou heterofermentativas, quando produzem outros compostos que podem contribuir para as características de sabor e aroma de produtos lácteos fermentados (CABRAL et al., 2016). Estes atributos os tornam extremamente interessantes em diversos processos industriais, principalmente na fabricação de derivados lácteos fermentados.

As BALs são amplamente distribuídas em alimentos fermentados naturais como microflora indígena (WANG *et al*., 2016), tornando esses produtos uma fonte comum de bactérias com propriedades funcionais e tecnológicas potencialmente interessantes, bem como probióticos em perspectiva.

Várias pesquisas têm sido conduzidas para a utilização de BALscomo culturas iniciadoras ou adjuvantes na fabricação de produtos lácteos (TAMANINI *et al*., 2012; SILVA *et al*., 2020). Essas bactérias podem ser usadas na produção de queijos devido à sua capacidade de liberar proteases, lipases ou β-galactosidases para formar sabor, aroma e textura únicos (JUAN *et al*., 2016). Durante a fermentação do queijo, as características e funções mais importantes das BALs são (1) a conversão de lactose do leite em monossacarídeos moleculares, galactose e glicose, que promovem a formação do sabor do queijo (BLAYA *et al*., 2018); (2) a degradação de proteínas em peptídeos e aminoácidos livres; e (3) a degradação de lipídios em ácidos graxos (KONKIT e KIM, 2016).

Em queijos, as BALs iniciadoras são responsáveis pela produção de ácidos durante a elaboração do queijo, contribuem para o processo de cura, além de produzir substâncias antagônicas que inibem o crescimento de bactérias indesejáveis (TAMANINI *et al*., 2012). Já as culturas adjuntas resultam em um aumento da proteólise secundária e da atividade da aminopeptidase, enzima responsável pela redução do sabor amargo e pelo aumento da concentração de peptídeos de sabor desejável (BARROS *et al*. 2006).

O espectro hidrolíticos e de metabólitos produzidos pelas BALs é fortemente específico de cada isolado/cepa e, portanto, a escolha apropriada da cepa bacteriana inicial com características específicas determina as propriedades e a qualidade do produto final. Dada a grande variedade de propriedades manifestadas por diferentes

cepas, a triagem destas que exibem propriedades biológicas e tecnológicas atraentes, continua sendo uma das principais direções de pesquisa em microbiologia de alimentos (BOSMA *et al*., 2017).

Outro papel importante das BALs é a prevenção do crescimento de microrganismos patogênicos, reduzindo assim os riscos de desenvolvimento de doenças transmitidas por alimentos. Assim, vários metabólitos da BAL, como bacteriocinas, ácidos orgânicos e peróxido de hidrogênio atuam como agentes de preservação biológica, melhorando a segurança alimentar e prolongando o período de armazenamento do produto final (ÖZOGUL e HAMED 2018). Portanto, o crescimento, a taxa de acidificação associada a atividade antimicrobiana são as propriedades mais importantes das cepas recém-isoladas como potenciais candidatos para aplicações biotecnológicas e da indústria de alimentos.

Além desses importantes papéis físico-químicos, algumas cepas de BALs são consideradas probióticas devido ao seu efeito benéfico no trato intestinal e na saúde humana, tornando a compreensão da funcionalidade da BAL um tópico industrial e nutricionalmente relevante (JANKOVIC *et al*. 2010).

Baseado neste contexto este estudo visou estudar o potencial tecnológico de BAL endógenas isoladas de queijos frescos e leite cru da região de Londrina no estado do Paraná.

2. MATERIAL E MÉTODOS

ISOLADOS BACTERIANOS E CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO

Neste estudo foram avaliados 14 isolados de BALs, previamente caracterizados por Katsuda *et al*. (2019) (Tabela 1). Todos os isolados foram estocados em meio caldo Man Rogosa Sharp (MRS - Himedia) e mantidos a -20 °C. As culturas foram reativadas duas vezes em 5 mL de caldo MRS incubados a 37 ºC por 24 horas.

Tabela 1. Bactérias ácido láticas isoladas e identificadas a partir de amostras de queijos e leite.

Gênero/Espécie	Nomemclatura recebida	Fonte
Lactococcus lactis subsp. *cremoris*	Bal1	Queijo
Enterococcus faecalis	Bal2	Queijo
Enterococcus sp.	Bal3	Queijo
Lactococcus lactis	Bal4	Queijo
Enterococcus sp.	Bal5	Queijo
Streptococcus macedonicus	Bal6	Queijo
Lactobacillus rhamnosus	Bal7	Queijo
Lactobacillus rhamnosus	Bal8	Queijo
Enterococcus durans	Bal9	Queijo
Enterococcus faecium	Bal10	Queijo
Enterococcus durans	Bal11	Queijo
Enterococcus sp.	Bal12	Leite
Pediococcus pentosaceus	Bal13	Queijo
Enterococcus sp.	Bal14	Queijo

Fonte: Os Autores.

TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS PELO MÉTODO DE DIFUSÃO EM DISCO.

O teste de difusão em disco seguiu a metodologia preconizada pela Clinical Laboratory Standard (CLSI, 2011). Incubou-se uma alíquota de 20 µL de cada isolado, em meio Mueller Hinton ágar (MHA) à 37 ºC / 16 horas. Após esse período suspendeu-se as colônias em tubos de solução salina (NaCl 0,85 %) até atingirem turbidez de 0,5 da escala de McFarland (1,5 x 10^8 cels. mL^{-1}). Essa suspensão foi semeada na superfície de MHA, em três direções. Depositou-se então os discos de antibiótico sobre o meio inoculado (gentamicina 10 µg, vancomicina 30 µg, tetraciclina 30 µg, estreptomicina 30 µg, eritromicina 15 µg e ciprofloxacina 5 µg). As placas foram incubadas a 37 ºC / 16 - 24 horas e observou-se os halos de inibição. Os diâmetros de halos de inibição foram mensurados e interpretados em tabela de acordo com os critérios de interpretação preconizados pelo CLSI.

ATIVIDADE ANTAGÔNICA

A avaliação da atividade antagonista de BALS foi realizada frente aos microrganismos patogênicos segundo os procedimentos descritos por Ogaki et al. (2016). Os microrganismos patogênicos utilizados foram *Listeria monocytogenes* CDC 4555, *Listeria innocua* CLIP 12612, *Escherichia coli* enterotoxigênica BAC 49 LT, *Staphylococcus aureus* 25923 ATCC, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcusfaecium*e *Salmonella* enteritidis ATCC 13076.

Cada isolado de BAL foi inoculado em placas contendo ágar MRS e incubado a 37 °C por 24 e 48 horas. Posteriormente, foi adicionado 1 mL de clorofórmio nas tampas das placas, deixando agir por 40 minutos, para morte celular; em seguida o clorofórmio residual foi removido mantendo as placas abertas. Em seguida, as placas receberam uma sobrecamada de meio MRS soft ágar (0,7 %) contendo cada linhagem patogênica em uma concentração de 10^6 UFC. mL^{-1}, e as placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas. Foram considerados isolados antagonistas aqueles que apresentaram um halo de inibição de crescimento ao redor das colônias.

PROTEOLÍSE, LIPOLÍSE E HIDRÓLISE DA LISINA

As atividades enzimáticas de proteólise e lipólise foram determinadas pelo método de HANKIN; ANAGNOSTAKIS (1975) pela relação entre o a média do halo de degradação do substrato e a média da colônia, expresso como Índice Enzimático (IE).

Para a avaliação da atividade proteolítica, um volume de 10 µL de cada isolado (concentração 1,5 x 10^8 UFC. mL^{-1}) foi inoculado em placas contendo Plate Count Ágar (PCA) suplementado com 1 % de leite Molico® a 10 %. Para a avaliação da atividade lipolítica, os isolados foram inoculados em meio Luria-Bertani (LB) suplementado com 0,5 % de Tween 20 ou 0,5 % de azeite de oliva.

As placas de ambos os testes foram incubadas a temperatura de 20 °C e 37 °C por período de até 360 horas e a mensuração do IE foi realizada nos tempos 24, 48, 120, 240 e 360 horas.

Para melhor observação do halo de proteólise, nos tempos 120, 240 e 360 horas de incubação, foi adicionada uma alíquota de 0,5 mL de ácido acético 5 % à superfície das placas. Já as placas do ensaio de atividade lipolítica foram submetidas à refrigeração (4 °C) por aproximadamente 6 horas. Segundo Messias *et al*. (2011) a

formação de halo claro ao redor da colônia é uma resposta da atividade da lipase secretada no meio sólido, sendo útil para a seleção de microrganismos lipolíticos.

A avaliação de hidrólise da lisina seguiu protocolo descrito por Araújo (2008), com modificações. Um volume de 100µL da cultura (concentração de 1,5 x 10^8 UFC. mL^{-1}) foram adicionados em um tubo contendo 3mL de caldo Lisina Descarboxilase, os quais foram incubados a 20 °C e 37 °C por 48 horas. O resultado positivo foi observado por meio da alteração de cor do meio de amarelo para púrpura.

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE ACIDIFICAÇÃO

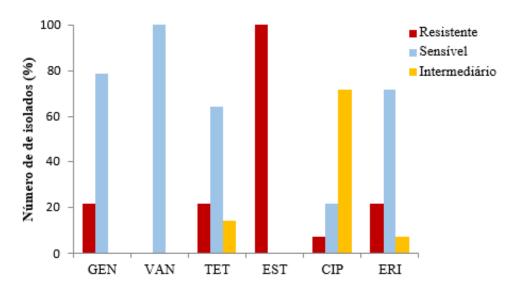
Para avaliar a capacidade das BAL em acidificar o meio, 250µL da cultura contendo1,5 x 10^8 UFC. mL^{-1} foram adicionados em 25mL de leite Molico® 10 %, esterilizado em autoclave a fluxo contínuo por 15 minutos, e incubada a 20 °C e 37 °C. O pH foi mensurado nos tempos 6, 12, 24 e 48 horas. A acidez foi determinada por titulação nos tempos 24 e 48 horas, e o resultado expresso em percentual de ácido lático, ou seja, g de ácido lático por 100 mL (BRASIL, 2006).

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os experimentos foram conduzidos no delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% através do programa STATISTICA 7 (Statsoft®, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo avaliamos o potencial tecnológico para produção de queijo maturado, em 14 isolados de BALs. Isolados bacterianos para serem utilizados como cultura iniciadoras ou adjuvantes, devem ter seu grau GRAS (GENERALLY REGARDED AS SAFE), portanto, uma das características é a sensibilidade a antimicrobianos de uso clínico. Os resultados do percentual de resistência dos isolados de BALs estão apresentados na Figura 1.

Figura 1. Distribuição do perfil de sensibilidade das Bactérias Ácido Láticas aos antimicrobianos: (GEN) Gentamicina; (VAN) Vancomicina; (TET) Tetraciclina; (EST) Estreptomicina; (CIP) Ciprofloxacina e (ERI) Eritromicina.

Fonte: Os Autores

Todos os isolados foram sensíveis ao antibiótico vancomicina, porém foram resistentes à estreptomicina. Para os demais antimicrobianos testados, obtivemos 21,43 % de resistência à gentamicina (Bal3, Bal6 e Bal11), 21,42 % à tetraciclina (Bal3, Bal7 e Bal11) e 21,43 % à eritromicina (Bal6, Bal7 e Bal11).

Embora nossos isolados tenham apresentado resistência à estreptomicina, para os demais antimicrobianos apresentaram-se seguros, mostrando assim que a resistência é isolado-dependente. Aresistência antimicrobiana (RA) se deve a fatores intrínsecos, pela presença de genes de resistência em cromossomo (GUEIMONDE *et al. 2013*).

A RA é um fenômeno natural no ambiente (D'COSTA *et al*., 2011). Os mesmos antimicrobianos comumente usados na medicina humana e veterinária, que resultaram em um rápido surgimento de RA em bactérias da cadeia alimentar (EFSA / ECDC, 2018). As bactérias do ácido lático podem atuar como um reservatório de RA (DURANTI *et al.,* 2017; ŠTŠEPETOVA *et al*., 2017), que podem ser disseminadas ainda mais através da cadeia alimentar.

O resultado do nosso teste de suscetibilidade antimicrobiana é corroborado com o relatório de Maldonado e Nader-Macías (2015), onde isolados de LAB foram suscetíveis à eritromicina e tetraciclina.

Gueimonde *et al*. (2013) relataram a presença de lactobacilos resistentes ao glicopeptídeo vancomicina, sendo esse fenótipo caracterizado como resistência

intrínseca ao LAB. Da mesma forma, outros autores relataram a resistência á ampicilina e aminoglicosídeos em isolados de BALs provenientes de alimentos (KLOSE *et al*., 2014; DEC *et al*., 2017; ABRIOUEL *et al.*, 2015). Especificamente para enterococos, os padrões de resistência *amúltiplas drogas*encontrados estão de acordo com o relatado por Jackson *et al*. (2010) e Santos *et al*. (2015) com isolados a partir de leite.

Os resultados de ação antagônica das BALs frente a bactérias potencialmente patogênicas estão apresentados na Tabela 2. Todos os isolados analisados foram capazes de inibir pelo menos um dos patógenos testados, em um dos tempos.

Tabela 2. Atividade antagonista de bactérias ácido láticas nos tempos 24 e 48 horas.

Isolados	Tempo (Hs)	Patógenos						
		E.coli Enterot	*S. ent.*	*L. Innocua*	*L.monocyt.*	*S.aureus*	*E.faecalis*	*E.faecium*
Bal1	24	-	-	-	-	-	-	-
	48	+	-	-	-	-	-	-
Bal2	24	-	-	-	-	-	-	-
	48	+	+	+	-	-	-	-
Bal3	24	-	-	-	-	-	-	-
	48	+	+	+	+	-	-	-
Bal4	24	-	-	-	-	-	-	-
	48	-	-	+	+	-	-	-
Bal5	24	-	-	-	-	-	-	-
	48	-	-	+	-	-	-	-
Bal6	24	-	-	-	-	-	-	-
	48	-	-	+	-	-	-	-
Bal7	24	+	-	+	-	-	-	-
	48	+	+	+	+	-	-	-
Bal8	24	+	-	+	+	-	-	-
	48	+	+	+	+	-	-	-
Bal9	24	-	-	+	-	-	-	-
	48	-	+	+	+	-	-	-
Bal10	24	-	-	+	-	-	-	-
	48	-	+	+	-	-	-	-
Bal11	24	-	-	+	-	-	-	-
	48	-	+	+	+	-	-	-
Bal12	24	-	-	+	-	-	-	-
	48	-	-	+	+	-	-	-
Bal13	24	-	-	+	+	-	-	-
	48	-	+	+	+	-	-	-
Bal14	24	-	-	+	-	-	-	-
	48	-	+	+	+	-	-	-

+ resultado positivo, - resultado negativo.

Fonte: Os Autores

Devido às suas propriedades metabólicas, as BALs apresentam significativo efeito inibitório sobre o crescimento e a produção de toxinas de muitas outras espécies de bactérias. Os microrganismos que fazem parte das BALs produzem compostos

antimicrobianos, como: ácidos, diacetil, peróxido de hidrogênio, dióxido de carbono e álcool,tendo como principal função o controle e profilaxia para o desenvolvimento de bactérias patogênicas (OGAKI *et al*., 2016).

Observamos que a substância inibidora produzida continuou a ação após 24 hs de incubação, mesmo a célula produtora estando morta pela ação do clorofórmio. Vale ressaltar que os isolados BAL3, BAL7 e BAL8 inibiram os principais patógenos alimentares (*E. coli*enterotoxigênica), *Salmonella* Enteritidis, *L. innocua* e *L. monocytogenes*. Os mesmos isolados também apresentaram elevada produção de ácidos orgânicos, mensurados pela acidez titulável total (TTA), podendo ser a presença de ácido um dos fatores de inibição (Figura 1 A e B). Dados semelhantes ao nosso foram obtidos por Gavrilova *et al*. (2019). Contudo, nosso grupo de pesquisa também demonstrou que esses isolados são produtores de bacteriocinas (dados não apresentados).

Independente do fator antagônico, vários de nossos isolados foram capazes de inibir patógenos alimentares. A presença de ácido láctico também auxilia na formação do gel, na texturização da coalhada e na formação de aroma de leites fermentados (TAMIME, 2002).

Amorim *et al* (2014) relataram que 71,42 % das amostras de queijo apresentaram elevadas contagens de coliformes a 35 ºC e 45 ºC. Neste estudo demonstra que as cepas de *Lactococcus*, *Lactobacillus* e *Enterococcus* de forma associada poderiam contribuir com o controle dos coliformes e *Salmonella* em queijo artesanal, desde que o manipulador cumpra os preceitos básicos de práticas higiênico-sanitárias.

Os resultados de pH e acidificação, nas temperaturas de 20°C e 37°C de incubação, estão apresentados na Figura 2. A diferença de temperaturas de incubação se deve a característica do tipo de produto que será submetida a ação desses microrganismos, ou seja, em se tratando de queijo curado, os testes com temperaturas mais baixas é fundamental. Neste quesito, os isolados que foram submetidos a fermentação na temperatura de 20 ºC apresentaram maior desempenho com 48 horas de incubação. Por outro lado, a 37 ºC houve uma diminuição significativa no pH em 24 hs, indicando este a condição promissora para leite fermentado, cujo o pH deve ser ácido.

Os valores da capacidade de acidificação dos *Enterococcus* foram superiores aos descritos por Giraffa (2003), no qual o autor afirma que linhagens de *Enterococcus*

são capazes de acidificar o leite a valores de pH inferiores a 5,0, corroborando com nossos resultados.

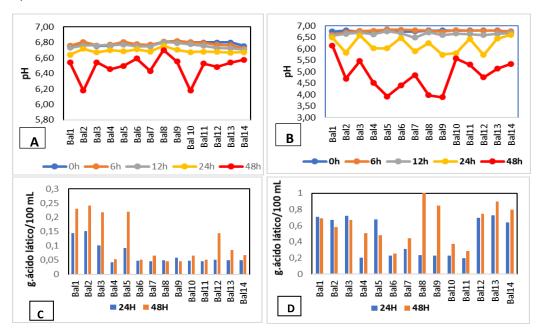



Figura 2. Atividade de pH (A e B) e acidez titulável (C e D) nas temperaturas de 20 e 37 °C, respectivamente.

Fonte: Os Autores

Por outro lado, o *Lactococcus* foi a espécie que o autor observou menor desenvolvimento de acidez na temperatura de 20 ºC. Neste estudo observou-se que os isolados Bal 1 e Bal 4, os quais compõem o gênero *Lactococcus*, apresentaram aumento significativo na acidez titulável em 24 h em temperatura de 20 ºC, enquanto a 37 ºC atingiu acidez de 0,7 % de ácido lático. 100 mL^{-1} em 24 h. Estes isolados apresentaram bom desempenho para a produção de queijos na temperatura e leite fermentado.

Lactococcus, Lactobacillus e *Enterococcus* foram influenciados pelo aumento da temperatura, ou seja, houve uma redução significativa de pH e aumento da acidez titulável. Este estudo permitiu determinar que os isolados compostos por *Lactococcus* e *Enterococcus* apresentaram maior taxa de fermentação, permitindo indicar estas cepas para produção de queijos e leite fermentados de acordo com suas respectivas temperaturas. Os demais isolados apresentaram baixa atividade fermentativa recomendando sua aplicação como cultura adjunta devido a vagarosa atividade fermentativa.

Nas condições de estudo delineados neste projeto, não foi observado atividade proteolítica em leite em pó reconstituído e atividade lipolítica em azeite de oliva pelos isolados avaliados. Contudo, foi observado atividade lipolítica em tween 20, os isolados apresentaram ação enzimática após 240 horas de incubação nas temperaturas de 20 °C e 37 °C (Tabela 3). Este fato reforça a necessidade de outras metodologias para mensurar a atividade enzimáticas dos isolados de BALs.

Tabela 3. Valores médios do índice enzimático com tween 20 incubados nas temperaturas de 20 ºC e 37 ºC.

Isolado	Médias*					
	20 °C			37 °C		
	120 horas	240 horas	360 horas	120 horas	240 horas	360 horas
Bal1	$0,00^{b}$	$2,11^{a}$	$2,74^{c}$	$1,71^{b}$	$1,90^{defg}$	$2,02^{f}$
Bal2	-	-	-	$1,23^{c}$	$1,51^{g}$	$1,93^{f}$
Bal3	-	-	-	$0,00^{d}$	$3,81^{a}$	$3,91^{a}$
Bal4	-	-	-	$2,06^{a}$	$2,26^{bcde}$	$2,95^{c}$
Bal5	$0,00^{b}$	$1,56^{b}$	$2,96^{b}$	-	-	-
Bal6	-	-	-	$0,00^{d}$	$1,60^{fg}$	$2,17^{def}$
Bal7	-	-	-	$0,00^{d}$	$2,11^{cdef}$	$2,82^{c}$
Bal8	-	-	-	$1,63^{b}$	$1,77^{efg}$	$2,34^{de}$
Bal9	-	-	-	$0,00^{d}$	$2,65^{b}$	$3,39^{b}$
Bal10	-	-	-	$0,00^{d}$	$2,56^{bc}$	$2,82^{c}$
Bal11	$0,00^{b}$	$0,00^{c}$	$3,13^{a}$	$0,00^{d}$	$2,33^{bcd}$	$3,10^{bc}$
Bal12	$1,90^{a}$	$2,22^{a}$	$2,51^{d}$	-	-	-
Bal13	-	-	-	$2,10^{a}$	$2,09^{cdef}$	$2,13^{ef}$
Bal14	-	-	-	$0,00^{d}$	$1,66^{fg}$	$2,46^{d}$

^{a,b}- letras minúsculas iguais significam que não houve diferença estatística entre os isolados da mesma coluna.($p \leq 0,05$).
(-): ausência de atividade.

Fonte: Os Autores

As propriedades mais importantes dos microrganismos como iniciantes no leite são sua capacidade de produzir ácido no leite e converter proteínas em componentes de sabor (WOUTERS *et al.*, 2002). A atividade enzimática é crítica para esse processo, incluindo lactoperoxidase, catalase, xantina oxidase, proteinase, lipase, salolase (arilesterase) e amilase (FOX e KELLY, 2006).

Embora não observamos as atividades proteolítica considerável, em estudo realizado por Cabral *et al.* (2016), os isolados do gênero *Lactobacillus* e *Enterococcus* apresentaram atividade proteolítica, embora a temperatura tenha ocorrido entre 30 ºC e 37 ºC, o que pode ter contribuído com a atividade da enzima. Já os estudos realizados por McSweeney e Sousa (2000), corroboram com nossos resultados, uma vez que relataram que muitas BALs, incluindo *Lactococcus*, *Lactobacillus* e

Streptococcus, são considerados cepas fracamente proteolíticas. No entanto, a proteólise é uma das principais e mais complexas reações enzimáticas que ocorrem em produtos lácteos.

A maioria das culturas láticas iniciadoras possuem habilidade de hidrolisar as proteínas do leite para seu próprio crescimento e, eventualmente, para desenvolver sabor em queijos maturados. Quando uma cultura é capaz de quebrar a caseína e coagular o leite em 24 horas a 22 °C pela produção de ácidos, estas possuem atividade proteolítica. Por outro lado, se uma cultura requer 48 horas ou mais para coagular o leite, sob a mesma temperatura, estes não se enquadram como cultura proteolítica. Culturas frescas isoladas possuem boa atividade proteolítica, todavia, durante o crescimento e transferência em um meio de cultivo, pode não apresentar mais essa característica. Para a fabricação de queijos, as culturas proteolíticas podem ocasionar sabor amargo, devido à formação de peptídeos amargos derivados da hidrólise da caseína, assim como, diminui o rendimento do queijo (KOSIKOWSKI; MISTRY, 1997).

A lipase possui diversas propriedades enzimáticas e especificidades de substrato. Esta enzima faz parte de uma família de hidrolases que atuam nas ligações éster carboxílicas. O papel das lipases é hidrolisartriglicerídeos em diglicerídeos, monoglicerídeos, ácidos graxos e glicerol (HASAN *et al*., 2006). A lipólise é um importante evento bioquímico que ocorre durante a produção de queijo. Está bem estabelecido que a gordura do leite é essencial para o desenvolvimento de sabores desejáveis no queijo durante o amadurecimento

As BALs são geralmente consideradas fracamente lipolíticas, porém em alguns relatos foi observada a atividade lipolítica dessas bactérias (FERNÁNDEZ *et al*., 2000). Produtos como queijos com períodos de maturação prolongados, a atividade lipolítica do BALs contribui para o desenvolvimento do sabor e serve como substrato para reações posteriores que produzem produtos finais catabólicos (COLLINS *et al*., 2003). Essas informações são importantes, uma vez que nossos isolados apresentaram boa eficiência lipolítica em todos os isolados, quando incubados a 37 ºC.

Observou-se maior atividade lipolítica quando as cepas foram incubadas a temperatura de 37 ºC. As BALs geralmente apresentam fraca capacidade lipolítica quando comparadas a outros grupos de microrganismos, embora essa capacidade pode variar consideravelmente entre as espécies. Os *Enterococos* em geral, exibem

atividade lipolítica mais elevada do que outras espécies de BAL e, entre os enterococos, a espécie *E. faecalis* apresenta maior atividade (FOULQUIÉ MORENO *et al*., 2006).

De acordo com Collins *et al*. (2003), os gêneros *Lactococcus* e *Lactobacillus* são considerados pouco lipolíticos, todavia, de acordo com os resultados obtidos neste trabalho, quando incubados a 20°C, o gênero *Lactococcus* (BAL 1) apresentou capacidade lipolítica a partir de 10 dias.

Originalmente, suspeitava-se que as BALs tivessem atividades enzimáticas semelhantes. Apesar dessas expectativas, as bactérias estudadas neste trabalho têm perfis de atividade únicos. Essas bactérias têm o potencial de agregar valor aos atributos sensoriais e de segurança dos laticínios, apresentando assim atividades duplas que favorecem o metabolismo de lipídios e proteínas encontrados no leite. A capacidade de diferentes BALs de coexistir em um único alimento implica o potencial de usar um consórcio selecionado de bactérias com altos valores de atividades enzimáticas no desenvolvimento de alimentos para promover a saúde do consumidor.

4. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostraram as contribuições de BALs selecionados de queijo e leite na região de Londrina, norte do estado do Paraná. Os isolados apresentaram atividades de variação de pH, acidez, proteólise e lipólise variadas de acordo com o isolado, tempo e temperatura de incubação. Os gêneros *Enterococcus* e *Lactobacillus* apresentaram atividade antagonista contra *Salmonella*, *E. coli* e *Listeria inoccua, Listeria monocytogenes.* Já os testes de sensibilidade a antimicrobianos nos mostrou que esses isolados podem ser utilizados isolados ou combinados para produção de queijos.

REFERÊNCIAS

ABRIOUEL, H.; CASADO MUÑOZ, M. C.; LERMA, L. L.; MONTORO, B. P.; BOCKELMANN, W.; PICHNER, R.; KABISCH, J.; CHO GS.; FRANZ, C. M. A. P; GÁLVEZ, A.; BENOMAR, N. New insights in antibiotic resistance of Lactobacillus species from fermented foods. Food Research International. v. 78, p. 465-481, 2015.

AMORIM, A. L. B. C; COUTO, E. P.; SANTANA, A. P.; RIBEIRO, J. L.; FERREIRA, M. A. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos do tipo Minas padrão de produção industrial, artesanal e informal. Revista do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo, v. 73, n. 4, p. 364-367, 2014.

BARROS, C. M. V.; CUNHA, C. R.; GALLINA, D. A.; VIOTTO, L.; VIOTTO, W. H. Efeito do uso de cultura adjunta (Lactobacillus helveticus) na proteólise, propriedades viscoelásticas e aceitação sensorial de queijo prato light. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2006.

BLAYA, J., BARZIDEH, Z., LaPOINTE, G. Symposium review: interaction of starter cultures and nonstarter lactic acid bacteria in the cheese environment. Journal of. Dairy Science, v.101, p. 3611–3629, 2018.

BOSMA, E. F.; FORSTER, J.; NIELSEN, A. T. Lactobacilli and pediococci as versatile cell factories - Evaluation of strain properties and genetic tools. Biotechnology Advances, v. 35, n. 4, p. 419-442, 2017.

BRASIL, Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 68, de 12 de Dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo 49 desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios. Publicado no Diário Oficial da União de 14/12/2006, Seção 1, Página 8.

CABRAL, M. L. B; LIMA, M.S.F.; FERNANDES, G.A.A.; COSTA, E.F.; PORTO, A.L.F.; CAVALCANTI, M.T.H. Artisan cheese: a potential source of wild lactic acid bactéria to obtain new starter cultures. Journal of Bioenergy and Food Science v.3, n. 4, p.207-215, 2016

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. ed. 27. 2017.

COLLINS, Y. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; WILKINSON, M. G. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. International Dairy Journal, v. 13, n. 11, p. 841–866, 2003.

D`COSTA, V. et al. Antibiotic resistance is ancient. Nature, v. 477, p.457–461, 2011.

DEC, M; URBAN-CHMIEL, R.; STĘPIEŃ-PYŚNIAK, D.; WERNICKI, A. Assessment of antibiotic susceptibility in Lactobacillus isolates from chickens. Gut Pathogens. v. 9, n.54, p. 2-16, 2017.

DURANTI, S.; LUGLI, G. A.; MANCABELLI, L.; TURRONI, F.; MILANI, C.; MANGIFESTA, M.; FERRARIO, C.; ANZALONE, R.; VIAPPIANI, A.; VAN SINDEREN, D.; VENTURA, M. Prevalence of antibiotic resistance genes among human gut-derived bifidobacteria. Applied Environment Microbioolgy, v. 83, 2017.

EFSA/ECDC The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2016. EFSA Journal, v. 16, p. 5182, 2018.

FERNÁNDEZ, L.; BEERTHUYZEN, M. M.; BROWN, J.; SIEZEN, R. J.; COOLBEAR, T.; HOLLAND, R.; KUIPERS, O. P. Cloning, characterization, controlled overexpression, and inactivation of the major tributyrin esterase gene of Lactococcus lactis. Applied Environmental Microbiology. v. 66, n. 4, p. 1360-1368, 2000.

FOULQUIÉ MORENO, M. R.; SARANTINOPOULOS, P.; TSAKALIDOU, E.; De VUYST, L. The role and application of enterococci in food and health. International Journal of food microbiology, v. 106, n. 1, p. 1-24, 2006.

FOX, P.; KELLY, A. Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects – part 1. International. Dairy Journal, v. 16, n. 6, p. 500-516, 2006.

GAVRILOVA, E.; ANISIMOVA, E.; GABDELKHADIEVA, A.; NIKITINA, E.; VAFINA, A.; YARULLINA, D.; BOGACHEV, M.; KAYUMOV, A. Newly isolated lactic acid bacteria from silage targeting biofilms of foodborne pathogens during milk fermentation. BMC Microbiol. v. 19, n. 248, p. 2-12, 2019.

GIRAFFA, G. Functionality of enterococci in dairy products. International Journal of Food Microbiology, v.88, n. 2, p.215-222, 2003.

GUEIMONDE, M.; BORJA SÁNCHEZ, C. G. R.; MARGOLLES, A. Antibiotic resistance in probiotic bactéria. Front. Microbiol., v.18, p.1-6, 2013.

HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S.L. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. Mycologia, v. 67, p. 597-607, 1975.
HARRIGAN, W. F. Laboratory Methods in Food Microbiology. 3ª ed. San Diego: Academic Press, 1998.

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Industrial applications of microbial lipases. Enzyme Microbial Technology. v. 39, n. 2, p. 235-251, 2006.

JACKSON, C. R.; LOMBARD, J. E.; DARGATZ, D. A.; FEDORKA-CRAY, P. J. Prevalence, species distribution and antimicrobial resistance of enterococci isolated from US dairy cattle. Letters in Applied Microbiology. v.52, p. 41–48, 2010.

JANKOVIC, I.; SYBESMA, W.; PHOTHIRATH, P.; ANANTA, E.; MERCENIER, A. Application of probiotics in food products--challenges and new approaches. Current Opinion in Biotechnology. v. 21, n. 2, p. 175-81, 2010.

JUAN, B., ZAMORA, A., QUEVEDO, J. M., TRUJILLO, A. J. Proteolysis of cheese made from goat milk treated by ultra high pressure homogenisation. LWT - Food Science and Technology, v. 69, p. 17–23, 2016.

KATSUDA, M. S.; GIAZZI, A.; PAULA, P. L. M.; TOSONI, N. F.; MORALEZ, A. T. P.; FURLANETO-MAIA, L. Avaliação do perfil de bactérias autóctones com potencial aplicação em produtos lácteos fermentados. In: NETO, B. R. S. A produção do conhecimento nas Ciências da Saúde, v. 4, Ponta Grossa: Atena Editora, 2019. Capítulo 31.

KLOSE, V.; BAYER, K.; KERN, C.; GOELß, F.; FIBI, S.; WEGL, G. Antibiotic resistances of intestinal lactobacilli isolated from wild boars. Veterinary Microbiology, v. 168, n. 1, p.240-244, 2014.

KONKIT, M.; KIM, W. Activities of amylase, proteinase, and lipase enzymes from Lactococcus chungangensis and its application in dairy products. Journal of. Dairy Science, v.99, p. 4999–5007, 2016.

KOSIKOWSKY, F. V.; MISTRY, V.V. Cheese and fermented milk foods. 3rd edition, v. 1, p 26-56. Connecticut: Edward Brother Inc. 1997.

MALDONADO, N.C.; NADER, M. E. F. Functional properties (acid and bile tolerance) and antibiotic susceptibility of lactic acid bacteria isolated from newborn calves for the design of a probiotic product. International Journal of Veterinary Science and Research. v. 1, n. 1, p. 11–22, 2015.

McSWEENEY, P.; SOUSA, M. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: a review. Lait, v. 80, n. 3, p. 293–324, 2000.

MESSIAS, J. M.; COSTA, B. Z.; LIMA, V. M. C.; GIESE, E. C.; DEKKER, R. F. H.; BARBOSA, A. N. Lipases microbianas: Produção, propriedades e aplicações biotecnológicas. Semina, v. 32, n. 2, p. 213-234, 2011.

OGAKI, M. B. et al. Screening of the Enterocin-Encoding Genes and Antimicrobial Activity in Enterococcus Species. Journal Microbiololy Biotechnology. V.26, n.6, p.1026–1034, 2016.

ÖZOGUL, F.; HAMED, I. The importance of lactic acid bacteria for the prevention of bacterial growth and their biogenic amines formation: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. v. 58, n. 10, p. 1660-1670, 2018.

SANTOS, K. M. O.; VIEIRA, A. D.DS.; SALLES, H. O.; OLIVEIRA, J. S.; ROCHA, C. R. C.; BORGES, M. F.; BRUNO, L. M. Safety, beneficial and technology properties of Enterococcus faecium isolated from Brazilian cheeses. Brazilian Journal of Microbiology. v.46, n.1, p.237-249, 2015.

SILVA, H. R.; NASCIMENTO, R. C. V.; TALMA, S. V.; FURTADO, M. C.; BALIEIRO, A. L.; BARBOSA, J. B. Technological applications of lactic acid bacteria (BALs) in milk products. Revista Ingi, v.4, n.1, p.681-690. 2020.

ŠTŠEPETOVA, J.; TAELMA, H.; SMIDT, I.; HÜTT, P.; LAPP, E.; AOTÄHT, E.; MÄNDAR, R. Assessment of phenotypic and genotypic antibiotic susceptibility of vaginal Lactobacillus sp. Journal of Applied Microbiology, v. 123, p. 524-534, 2017.

TAMIME, A. Y. Microbiology of Starter Cultures. In: ROBINSON, R. K. Dairy Microbiology Handbook. 3 ed. Nova York: John Wiley and Sons, p. 261 – 347, 2002.

WANG, D.; LIU, W.; REN, Y.; DE, L.; ZHANG, D.; YANG, Y.; BAO, Q.; ZHANG, H; MENGHE, B. Isolation and identification of lactic acid bacteria from traditional dairy products in Baotou and Bayannur of midwestern inner Mongolia and q-PCR Analysis of Predominant Species. Korean Journal for Food Science of Animal Resource. v. 36, n. 4, p. 499-507, 2016.

WOUTERS, J.T.; AYAD, E. H.; HUGENHOLTZ, J.; SMIT, G. Microbes from raw milk for fermented dairy products. International. Dairy Journal, v. 12, n. 1-2, p. 91-109, 2002.

CAPÍTULO 04

CALIBRAÇÃO DO SENSOR CAPACITIVO DE UMIDADE DO SOLO EC-5 EM RESPOSTA A GRANULOMETRIA DO SOLO.

Carolina Carvalho Rocha Sena
Doutoranda em Agronomia pela Universidade Federal de Goiás
Instituição: Universidade Federal de Goiás
Endereço: Av. Esperança, s/n. Campus Samambaia. Goiânia/Go
E-mail: eng.carolinasena@gmail.com

José Alves Junior
Doutor em Irrigação e Drenagem pela Universidade de São Paulo - ESALQ/USP
Instituição: Universidade Federal de Goiás
Endereço: Av. Esperança, s/n. Campus Samambaia. Goiânia/Go
E-mail: josealvesufg@yahoo.com.br

Marcus Vinicius Honorato Domingos
Mestrando em Agronomia pela Universidade Federal de Goiás
Instituição: Universidade Federal de Goiás
Endereço: Av. Esperança, s/n. Campus Samambaia. Goiânia/Go
E-mail: marcus-domingos@hotmail.com

Elson de Jesus Antunes Junior
Doutor em Agronomia pela Universidade Federal de Goiás
Instituição: Centro Universitário de Anápolis – UniEvangélica
Endereço: Av. Universitária Km 3,5 Cidade Universitária - Anápolis/GO
E-mail: elson.j.jr@gmail.com

Rafael Battisti
Doutor em Engenharia de Sistemas Agrícolas pela Universidade de São Paulo - ESALQ/USP Instituição: Universidade Federal de Goiás
Endereço: Av. Esperança, s/n. Campus Samambaia. Goiânia/Go
E-mail: r.battisti@hotmail.com

Adão Wagner Pegô Evangelista
Doutor em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa Instituição: Universidade Federal de Goiás
Endereço: Av. Esperança, s/n. Campus Samambaia. Goiânia/Go
E-mail: awpego@bol.com.br

Derblai Casaroli
Doutor em Física do Ambiente Agrícola pela Universidade de São Paulo - ESALQ/USP
Instituição: Universidade Federal de Goiás
Endereço: Av. Esperança, s/n. Campus Samambaia Goiânia/Go
E-mail: derblaicasaroli@yahoo.com.br

RESUMO: A precisão dos sensores capacitivos utilizados na estimativa do teor de água no solo são dependentes das características do solo, necessitando de calibração para sua correção. O objetivo deste estudo foi calibrar o sensor capacitivo EC-5 para a estimativa do conteúdo de água no solo em relação a diferentes granulometria do solo do cerrado. Em condições de laboratório, comparou-se a variação da umidade dos solos Argila Arenosa, Franco Argilo Arenoso e Argila pelo sensor EC-5 e pelo método volumétrico. As amostras foram coletadas nas camadas de 0,00 a 0,10; 0,10 a 0,30 e 0,30 a 0,50 m em áreas de pivô central no cerrado goiano. O solo foi saturado e seco em estufa a 40ºC até peso constante, esse procedimento foi repetido três vezes. Os índices estatísticos analisados mostraram que o sensor EC-5 pode ser utilizado para a determinação da umidade do solo sendo necessário a calibração do mesmo para cada tipo de solo. O solo Argila Arenosa obteve o coeficiente de determinação (r^2) maior que 0,95; para o solo Franco Argilo arenoso o r^2 foi igual ou maior a 0,93 e para o solo de textura Argila o r^2 foi superior a 0,81. Para a calibração do sensor EC-5 considerando o teor de argila a no solo é necessário utilizar da equação: θ_{vol}=0,0758-0,0023*Arg %-1,056* $\theta_{EC\text{-}5}$.

PALAVRAS-CHAVE: Manejo da irrigação; Conteúdo de água no solo; Física do solo

ABSTRACT: The accuracy of the capacitive sensors used to estimate the water content in the soil depends on the soil resources, requiring calibration for its correction. The objective of this study was to calibrate the EC-5 capacitive sensor to estimate soil water content in relation to different cerrado soil granulometry. Under laboratory conditions, the moisture variation of the Sandy Clay, Franco Sandy Clay and Clay soils was compared by the EC-5 sensor and the volumetric method. Samples were collected in the layers from 0.00 to 0.10; 0.10 to 0.30 and 0.30 to 0.50 m in central pivot areas in the Cerrado of Goiás. The soil was saturated and oven dried at 40ºC to constant weight, this procedure was repeated three times. The statistical indices analyzed showed that the EC-5 sensor can be used for soil moisture determination and its calibration is required for each soil type. The sandy clay soil had a coefficient of determination (r^2) greater than 0.95; for Franco sandy clay soil r^2 was equal to or greater than 0.93 and for clay textured soil r^2 was greater than 0.81. To calibrate the EC-5 sensor considering the clay content in the soil it is necessary to use the equation: θ_{vol}=0.0758-0.0023*Clay %-1.056* $\theta_{EC\text{-}5}$.

KEYWORDS: Irrigation Management; Soil water contente; Soil physics

1. INTRODUÇÃO

O conhecimento e monitoramento do conteúdo de água no solo detém importante ferramenta para o fornecimento de informações destinadas a gestão da agricultura, como manejo da irrigação; estudos hidrológicos e calibração e validação de modelos de água no solo (PAYERO *et al*., 2017; PIZETTA *et al*., 2017). A determinação da umidade do solo pelo o método direto (método padrão) é considerado preciso e de baixo custo, entretanto é destrutivo e altamente trabalhoso, impossibilitando tomadas de decisões rápidas em campo (MATOS *et al*., 2017).

Em resposta a essas deficiências no monitoramento do solo o uso de sensores eletromagnéticos (método indireto) apresentam-se como uma alternativas viáveis, uma vez que estes podem fornecer e registrar valores atuais de conteúdo de água de forma não destrutiva e instantânea (GOMES *et al*., 2017; PIZETTA, 2017), levando a redução significativa do uso da água enquanto mantém ou aumenta os rendimentos da cultura (PEREIRA *et al*., 2018; GASCH *et al*., 2017).

Os sensores capacitivos fazem uso da Reflectometria do Domínio da Frequência (FDR) para a quantificação do conteúdo de água no solo, baseando-se na constante dielétrica da matriz do solo (MATOS *et al*., 2017; SOUZA *et al*., 2013), desse modo características especificas do solo, como temperatura, textura, salinidade, densidade do solo mineralogia; podem influenciar a precisão da leitura do sensores de umidade exigindo calibração do sensor que responda por condições específicas (GASCH *et al*., 2017; FARES *et al*., 2015).

Há estudos que mostram a importância da calibração de sensores de umidade e da confecção de curvas de calibração para cada tipo de solo, estrutura e profundidade, seja em condição de laboratório ou em campo (SOUZA *et al*., 2013; PARVIN e DÉGRE, 2015). E que essas calibrações possibilitaram o incremento da precisão dos sensores na leitura do teor de água no solo (PEREIRA *et al*., 2018; PIZETTA, 2017; GOMES *et al*., 2017; GASCH *et al*., 2017; PAYERO *et al*., 2017).

Silva *et al*. (2012) realizaram a calibração de sonda de capacitância em um Latossolo Vermelho distrófico, muito argiloso, relataram que as calibrações padrão do fabricante não se mostraram adequadas para emprego em diferentes profundidades e locais diferentes locais e profundidades de amostragem. Souza *et al*. (2013) ao calibrarem sonda de FDR e TDR observaram que os valores apresentados pelos sensores podem subestimarem ou superestimarem, a umidade do solo quando

comparados a umidade determinada pelo o método padrão. Antunes Junior *et al.* (2018) concluíram que após a calibração d sensor EC-5, este apresenta alta acurácia na obtenção do conteúdo de água no solo para o Latossolo Vermelho distrófico.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi calibrar o sensor capacitivo EC-5 para a estimativa do conteúdo de água no solo em relação a diferentes granulometria do solo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Física dos Solos da Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia (Goiânia – GO). Os solos utilizados foram coletados em áreas cultivadas com tomate para processamento industrial irrigadas por pivô central nas regiões de Anápolis (16º26’17”S 48º50’17”O, 948 m), Corumbá de Goiás (15º56’46”S 48º51’03”O, 963 m) e Palmeiras de Goiás (16º41’45”S 49º53’04”O, 595 m) – Goiás.

As amostras de solo indeformadas foram coletadas utilizando anéis de Uhland com dimensões aproximadas de 4,82 cm de diâmetro e a 5,32 cm de altura, nas camadas de 0,0 a 0,10; 0,10 a 0,30 e 0,30 a 0,50 m. Nessas mesmas camadas também foram retiradas amostras de solo deformadas para a construção dos corpo de prova utilizado para a calibração dos sensores em laboratório. A composição granulométrica, sua classificação de acordo com a Embrapa (2013), Tabela 1.

Tabela 1. Composição granulométrica e classificação dos solos coletados.

Amostra	Camada (m)	Textura (%)			Classificação Textural
		Argila	Silte	Areia	
Anápolis	0,00 - 0,10	40	1	59	Argila Arenosa
	0,10 - 0,30	44	2	54	
	0,30 - 0,50	46	1	53	
Corumbá de Goiás	0,00 - 0,10	36	1	63	Franco Argilo Arenoso
	0,10 - 0,30	35	1	64	
	0,30 - 0,50	35	1	64	
Palmeiras de Goiás	0,00 - 0,10	61	14	25	Argila
	0,10 - 0,30	61	15	24	
	0,30 - 0,50	52	20	28	

Fonte: Os Autores.

A densidade do solo foi determinada utilizando o método do anel volumétrico conforme Embrapa (2017); o volume de poros totais (VPT) foi obtida a partir dos valores da densidade do solo (Ds) e densidade de partículas (Dp) (GOMES *et al.*, 2017) e as umidade no ponto de murcha permanente e ponto de capacidade de campo foi utilizando a câmara de pressão de Richards (RICHARDS & FIREMAN, 1943). As propriedades físicas do solo estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Propriedades físicas do solo estudado: Densidade do Solo (DS); θpmp: umidade referente ao ponto de murcha permanente (1500 kPa); θcc: umidade referente à capacidade de campo (10 kPa) e Volume de poros totais (VPT).

Solo	Camada (m)	DS (Mg m³)	θcc (m³m⁻³)	θpmp (m³m⁻³)	VPT (m³m⁻³)
Argila Arenosa	0,00 - 0,10	1,554	0,223	0,144	0,413
	0,10 - 0,30	1,423	0,195	0,123	0,463
	0,30 - 0,50	1,315	0,195	0,118	1,315
Franco Argilo Arenoso	0,00 - 0,10	1,511	0,200	0,128	0,429
	0,10 - 0,30	1,344	0,198	0,100	0,492
	0,30 - 0,50	1,293	0,197	0,096	0,512
Argila	0,00 - 0,10	1,387	0,225	0,143	0,476
	0,10 - 0,30	1,280	0,212	0,141	0,516
	0,30 - 0,50	1,228	0,219	0,127	0,536

Fonte: Os Autores.

O sensor utilizado para obtenção do conteúdo volumétrico de água no solo foi do tipo capacitivo ECH2O EC-5, produzido pela Decagon. O corpo do sensor é constituído de uma placa de sílica com a parte sensível (sensor) composto por cobre, com 0,05 m de comprimento e revestimento em acrílico (Decagon Devices Inc., 2019). Para aquisição de dados, utilizou-se o logger. Em -50, que possui 05 canais que permitem adquirir dados em formato bruto, valores em mV, ou valores de umidade volumétrica (m^3m^{-3}).

Após a coleta, os solos foram expostos ao ar para secagem natural e, posteriormente, peneirados em malha de 2 mm, para a remoção do material de maior granulometria. Após esse procedimento o solo foi seco em estufa a 105 ºC por 24 h e colocado em recipientes cilíndricos de PVC com 14,5 cm de diâmetro e 6,05 cm de altura, totalizando um volume de 137,8 cm³. Para o preenchimento dos recipientes

com a densidade do solo original, a cada 0,05 m de camada adicionada era efetuado uma leve compactação (ANTUNES JUNIOR *et al*., 2018).

A Figura 1 apresenta o esquema da instalação das sondas de TDR para avaliação da umidade do solo. Para possibilitar a drenagem da água o fundo dos recipientes foram revestidos com pano permeável.

Figura 1. Monitoramento do conteúdo de água do solo pelo método gravimétrico (A), do FDR (EC5) durante o período experimental.

Fonte: Os Autores

Para o início da calibração o solo foi saturado por capilaridade e depois iniciou-se a secagem das amostras em estufa a 40 ºC, em intervalos de 3 horas e espera de 1 hora (ANTUNES JUNIOR *et al*., 2018). As amostras de solo foram pesadas em balança analítica com precisão de 0,01 g para determinação de sua massa antes e depois de serem submetidas à secagem. Após a secagem, determinou-se os valores de umidade volumétrica atual (θa) de acordo com a equação 1:

$$\theta a = \frac{(Msu - Mss)}{Mss} \times \rho s$$

Em que: θa é a umidade volumétrica atual ($m^3\ m^{-3}$); Msu - é a massa de solo úmida (kg); Ms - é a massa de solo seco (kg); e ρs - é a densidade do solo ($Mg\ m^{-3}$).

As estimativas obtidas pelo sensor EC-5 foram comparadas com o método padrão (gravimétrico), utilizando equação de regressão linear, coeficiente de determinação (R^2), índice de concordância de Wilmott (d), coeficiente de correlação (r), índice de confiança (c), estimativa do erro padrão (EEP), raiz do erro quadrático médio (REQM) e eficiência dos métodos (EF).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A calibração de sensores para o monitoramento do conteúdo de água no solo é recomendado pelo fabricante, entretanto as diferentes propriedades do solo e suas peculiaridade tornam essa equação genérica insuficiente para o uso dos sensores com precisão. Assim, estudos relatam que a granulometria do solo está associado a valores da umidade real do solo estimado pelo o sensor e a umidade real determinada pelo método padrão (PIZETTA *et al*, 2017; PARVIN *et al*., 2015; ANDRADE JUNIOR *et al*., 2007; SILVA *et al*., 2012).

Na Tabela 3 apresenta as equações de calibração de sensores FDR obtidos em outros estudos. Nota-se que o coeficiente de determinação (R^2) das equações sugeridas pelos os autores são superiores a 0,90 demonstrando que o modelo de ajuste são capazes de melhorar o desempenho dos sensores estudados.

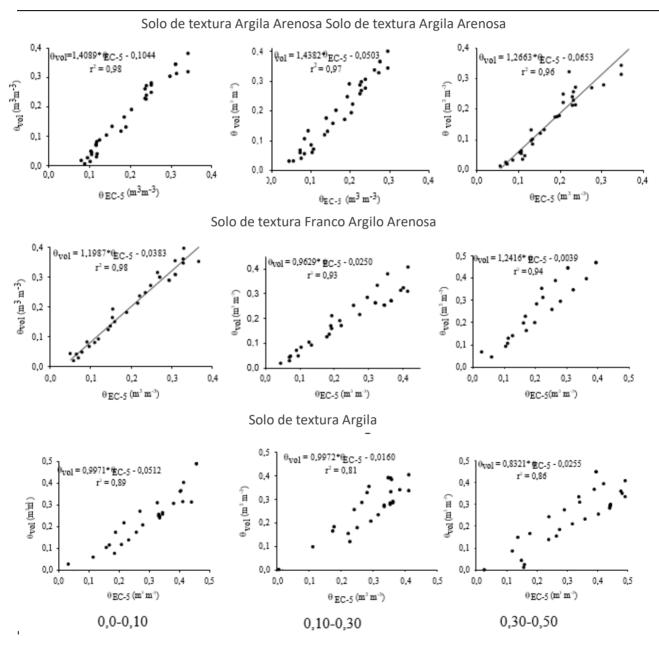
Tabela 3. Equações de calibração de sensores de FDR para o monitoramento de conteúdo de água no solo, obtidas em solos com diferentes granulometria.

Granulometria da Equação (%)					
Referência	Areia	Silte	Argila	Equação	R^2
	86	9	5	$\theta_r=1,39099*\theta_s - 2,8068$	0,98
Payero *et al*. (2017)	55	5	40	$\theta_r=0,90766*\theta_s + 1,6212$	0,95
	68	8	24	$\theta_r=1,07310*\theta_s - 2,4992$	0,99
Pereira *et al*. (2018)	31	23	46	$\theta_r=0,834*\theta_s + 0,2235$	0,97
Souza *et al*. (2013)	18	29	53	$\theta_r=1,31*\theta_s$	0,91
	55	18	27	$\theta_r=1,18*\theta_s$	0,91
Araújo Primo *et al*. (2015)	68,4	25,3	6,4	$\theta_r=0,4453*\theta_s + 2,9403$	0,92
Matos *et al*. (2017)		Neosolo		$\theta_r=1,76628*\theta_s+ 0,1756$	0,94

θr = Umidade real; θs = Umidade descrita pelo o sensor.

As leituras de umidade do solo (m^3m^{-3}) do sensor EC-5 sob os diferente solos e profundidades estão apresentados na Figura 2. Observou-se que para todas as diferentes tipos de solos estudados o sensores apresentaram uma resposta linear à variação da umidade do solo. Esses resultados atestam que os sensores respondem bem a alterações no conteúdo de água no solo comparado com as umidades volumétrica de cada amostra de solo. A relação linear foi observada também por Payero *et al*. (2017) quando avaliaram o EC-5 em quatro classes principais de textura

do solo comumente encontradas na Carolina do Sul. Pizzeta *et al.* (2017) ao calibrarem um sensor capacitivo-FDR equações lineares foram a que mais ajustaram no três tipos de solos estudados (Argissolo Vermelho Distrófico, Latossolo Vermelho Distroférrico e Nitossolo Vermelho Eutrófico).

Figura 2. Gráfico de dispersão do conteúdo de água no solo obtido pela aplicação da equação generalizada do fabricante e calibração específica, nas profundidades de 0,0-0,10; 0,10-0,30; 0,30-0,50 m para o solo Argila Arenosa, Franco Argilo Arenosa e Argila. Sendo θ_{vol}, o conteúdo de água real no solo (método volumétrico) e $\theta_{EC\text{-}5}$ o conteúdo de água no solo indicado pelo sensor EC-5.

O modelo linear ajustado para o solo de textura Argila Arenosa obteve coeficiente de determinação (r²) de 0,97 para a camada de 0,00-0,10 m e 0,95; 0,93 para a camada de 0,10- 0,30 e 0,30-0,50 m, respectivamente. Para o solo de textura Franco Argilo Arenoso os r² para as camadas subsequentes estudas foram de 0,97; 0,87 e 0,89. Coeficientes de determinação próximos a um representam que a reta obtida ajusta-se, satisfatoriamente, ao conjunto de dados. Aumentando a precisão e exatidão da estimativa da umidade do solo após a calibração de sensores (PAYERO *et al.*, 2017; PARVIN e DEGRÉ, 2016).

Os r² do solo de textura Argila não se mostraram elevados quanto aos demais solos analisados, obtendo valores de 0,81; 0,65 e 0,74 para as camadas de 0,00-0,10;0,10-0,30 e 0,30-0,50. Esse fato expressa que 19 %, 35 % e 26 % do conteúdo de água do solo observado não são explicadas pela variação do conteúdo de água do solo obtida pelo sensor na profundidade de 0 a 10, 10 a 20 e 20 a 40 cm, respectivamente. Resultados semelhantes para o desempenho de sensor capacitivo foram relatados por Pizzeta *et al*. (2017). Esses autores relataram coeficientes de determinação de 0,70, 0,72 e 0,48 relativos ao solo Argissolo, Latossolo e Nitossolo. Ramos et al. (2014) calibrando uma sonda de capacitância em um Neossolo Quartizarênico Órtico êutrico obtiveram coeficiente de determinação igual a 0,70.

A justificativa do baixo desempenho do sensor a esse solo se deve, supostamente, ao fato do alto teor de argila presente no solo. Solos com alto teor de argila possui mais água armazenada alterando a constante dielétrica do solo que em contato com partículas coloidais do solo (argila e matéria orgânica) (PIZZETA *et al.*, 2017; PARVIN & DEGRÉ, 2016; BÖHME *et al.*, 2013). Valores divergentes entre a umidade do solo obtido nas calibrações locais comparados com os valores de umidade do solo estimados pela a adoção da equação recomendada pelo fabricante do sensor pode estar associado à granulometria e à estrutura do solo (ARAÚJO FILHO *et al.*, 2015; FARES *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2013).

A variabilidade da granulometria, da densidade e da mineralogia ao longo do perfil do solo proporciona respostas diferentes da umidade do solo ao sensor, além da pequena área de contato do sensor. Esse fato revela a necessidade da calibração de sensores em variação do solo quanto as suas condições especificas que altera a capacidade de armazenar água em profundidade (ANTUNES JUNIOR *et al.*, 2018; GOMES et al., 2017).

Na Tabela 3, são apresentados os valores dos índices estatísticos entre a umidade volumétrica atual e a observada para as diferentes tipos de textura de solo e profundidade. Esses índices demonstra confiabilidade dos métodos utilizados na determinação do teor de umidade do solo para as diferentes textura do solo e camadas de profundidade. Assim como observado por Silva *et al*. (2012) e Souza **et al**. (2013).

Tabela 3. Índices estatísticos entre a umidade volumétrica e a umidade observada pelo o sensor EC-5 (calibração de fabricação) para as diferentes textura de solo e profundidade

Solo	Prof.	EQM[1]	EMA[2]	r[3]	d[4]
Argila Arenoso	0,00 - 0,10	0,002	0,040	0,98	0,94
	0,10 - 0,30	0,002	0,041	0,97	0,93
	0,30 - 0,50	0,002	0,034	0,97	0,96
Franco Argilo Arenoso	0,00 - 0,10	0,001	0,024	0,99	0,98
	0,10 - 0,30	0,003	0,047	0,94	0,95
	0,30 - 0,50	0,005	0,052	0,94	0,92
Argila	0,00 - 0,10	0,005	0,064	0,90	0,89
	0,10 - 0,30	0,005	0,059	0,80	0,88
	0,30 - 0,50	0,011	0,089	0,86	0,84

[1]Erro quadrático médio; [2]Erro médio absoluto; [3]Coeficiente de correlação; [4]Índice de concordância

O erro quadrático médio (EQM) para o solo Argila Arenoso em todas as camadas analisadas teve valor igual a 0,002. Para o solo Franco Argilo Arenoso o menor valor de EQM foi na camada de 0,00-0,10 m com valor de 0,001. O menor EQM foi analisado para a camada de 0,30-0,50 do solo Argila com valor de 0,011. Para este parâmetro estatístico quanto menor o valor menor é o erro e melhor é o ajuste para a estimativa da umidade do solo usando o sensor. O erro médio absoluto (EMA) para as amostras analisadas variou entre 0,024 para o solo Franco Argilo Arenoso (0,00 - 0,10m) e 0,089 para o solo Argila (0,30 - 0,50m).

Os valores do coeficiente de correlação (r) mostraram que houve uma tendência diminuir a precisão da calibração com o aumento a profundidade estudada. O menor coeficiente correlação analisado foi para o solo de textura Argila na camada de 0,10-0,30 m. O solo Argilo Arenoso e Franco Argilo Arenoso para a camada de 0,00-0,10 m tiveram r igual a 0,98 e 0,9; para as camadas subsequentes os valores de r foram igual a 0,97 e 0,94 para os dois solos.

O índice de concordância (d) para as três texturas de solo apresentaram valores superiores a 0,83; mostrando que o ajuste da equação teve acurácia para as profundidades analisadas. O solo de textura Argila Arenoso apresentou melhor índice para a camada de 0,30-0,50 m (d=0,96). Tanto o solo Franco Argilo Arenoso quanto o Argila a camada superior (0,00-0,10 m) apresentaram a melhor acurácia para a calibração, com valores de 0,98 e 0,89, nessa ordem. Na tabela 4 estão apresentados os dados de significância do modelo de regressão para as três texturas de solo referente ao sensor capacitivo EC5.

Tabela 4. Análise de variância Resumo da análise de variância das variáveis expressa pelo quadrado médio da umidade volumétrica estimada (m^3m^{-3}).

Fator de Variação	GL(1)	SQ(2)	QM(3)	F	F de significação
Regressão	2	3,427	1,713	561,36	$9,86\ 10^{-97}$
Resíduo	269	0,821	0,003		
Total	271	4,248			

(1)Grau de liberdade; (2)Soma dos quadrados (3)Quadrado médio

Na tabela 5 verifica-se que a interação teor de argila versus umidade volumétrica real observada apresentou diferença significativa ($P<0,05$) para a umidade do solo estimada pelo o sensor EC-5. A umidade volumétrica real do solo pode ser estimada após a calibração específica do sensor EC-5 para cada teor de argila no solo. Sendo a equação de ajuste:

$$\theta_{vol} = 0,0758 - 0,0023 * Arg_{\%} - 1,056 * \theta_{EC-5}$$

Em que: θv é a umidade volumétrica real do solo (m^3m^{-3}); $Arg_{\%}$ é o teor de argila presente no solo; θ_{EC-5} é a umidade descrita pelo o sensor EC-5 (m^3m^{-3}).

Tabela 5. Teste de significância do modelo linear (de primeiro grau) referente ao sensor capacitivo EC5 para o solo Argila Arenosa, Franco Argilo Arenoso e Argila.

Fonte de Variação	Coeficientes	Erro padrão	Valor -P
Interseção	0,0758	0,0146	$4,02\ 10^{-7}$
Teor de Argila	-0,0023	0,00033	$2,58\ 10^{-11}$
Umidade Volumétrica	-1,056	0,03211	$3,05\ 10^{-96}$

Fonte: Os Autores.

Estudo mostram que a estimativa da umidade do solo com sensores capacitivos tem relação significativa com o teor argila no solo, podendo causar imprecisões na medição do teor de umidade do solo com sensores baseados em capacitância no campo (PAYERO *et al*., 2017; PARVIN e DEGRÉ, 2016). Alto teor de argila e minerologia podem influenciar as propriedades dielétricas e de condução de um solo, resultando em super e subestimação do teor de água (GASCH *et al*., 2017).

A equação de ajuste para a calibração do sensor de capacitância EC-5 levando em conta o teor de argila do solo nos proporciona um melhor uso do sensor para o uso no manejo da irrigação, mostrando com precisão o ponto de disparo para iniciar a irrigação. Payero *et al*. (2017) relatam que a influência da textura do solo em resposta a sensor de umidade do solo pode ser uma combinação de diferenças intrínsecas na constante dielétrica das partículas do solo como a salinidade do solo, teor de matéria orgânica solo e densidade do solo.

CONCLUSÃO

As equações de calibração personalizadas para cada tipo e camada de solo devem ser preferidas, principalmente, em condições de campo heterogêneos, pois melhoraram a capacidade de medição dos sensores em comparação com suas correspondentes equações padrão.

A equação θ_{vol}=0,0758-0,0023*Arg%-1,056* θ_{EC-5}, pode ser utilizada para calibrar o sensor de umidade capacitivo EC-5 levando em consideração o teor de argila no solo.

REFÊRENCIA

ANDRADE JUNIOR, A.S.; SILVA, C.R.; DANIEL, R. Calibração de um sensor capacitivo de umidade em Latossolo Amarelo na microrregião do Litoral Piauiense. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.2, n.4, p.303-307, 2007.

ANTUNES JÚNIOR, E.J.; ALVES JUNIOR, J.; CASAROLI, D. **Calibração do sensor capacitivo ec-5 em um Latossolo em função da densidade do solo.** *Revista Engenharia na Agricultura*, v. 26, n. 01, p.80-88, 2018.

ARAÚJO PRIMO, J.T.; SILVA, T.G.F.; SILVA, S.M.S.; MOURA, M.S.B.; LUCIANA SANDRA BASTOS DE SOUZA. Calibração de sondas capacitivas, funções físico-hídricas e variação do armazenamento de água em um argissolo cultivado com palma forrageira. *Revista Ceres*, v. 62, n.1, p. 020-029, 2015.

BOHME, B.; MATHIAS BECKER, M.; DIEKKRÜGER, B. Calibrating a FDR sensor for soil moisture monitoring in a wetland in Central Kenya. *Physics and Chemistry of the Earth*, v. 66, p. 101-111, 2013.

Decagon Devices. *EC-5 soil moisture sensor.* Decagon Devices. Disponivel: http:// manuals.decagon.com/Manuals/13876_EC-5_ Web.pdf. Acesso:13 nov. 2019.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *Manual de métodos de análises de solo*. 2.ed. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e do abastecimento, 2017. 212p.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**.** *Sistema brasileiro de classificação de solos*. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Informação Tecnológica, 2013. 353 p.

FARES, A.; SAFEEQ, M.; AWAL, R.; FARES, S.; DOGAN, A. Temperature and probe-to-probe variability effects on the performance of capacitance soil moisture sensors in an Oxisol. *Vadose Zone Journal*, v.3, p.1-40, 2015.

GASCH, C.K.; BROWN, D.J.; BROOKS, E.S.; YOUREK, M.; POGGIO, M.; COBOS, D.R.; CAMPBELL, C.S. A pragmatic, automated approach for retroactive calibration of soil moisture sensors using a two-step, soil-specific correction. *Computers and Electronics in Agriculture*, v. 137, p. 29–40, 2017.

GOMES, F.H.F.; CUNHA, F.N.; LOPES FILHO, L.C.; VIDAL, V.M.; SOARES, F.A.L.; TEIXEIRA, M.B. Calibração de um sensor de umidade do solo de baixo custo. *Revista Brasileira de Agricultura Irrigada*, v.11, nº.4, p. 1509 - 1516, 2017.

MATOS, R.M.; DANTAS NETO, J.; LIMA, A.S.; SILVA, P.F.; BORGES, V.E.; SOBRINHO, T.G**.** Teor de umidade por diferentes métodos em Neossolo do semiárido brasileiro. *Revista Brasileira de Agricultura Irrigada*, v.11, nº.4, p. 1588 - 1597, 2017.

PARVIN, N.; DEGRÉ, A. Soil-specific calibration of capacitance sensors considering clay content and bulk density. *Soil Research*, v. 54, n. 1, p.111-119 2016.

PAYERO, J.O.; QIAO, X.; KHALILIAN, A.; MIRZAKHANI-NAFCHI, A.; DAVIS, R. Evaluating the Effect of Soil Texture on the Response of Three Types of Sensors Used to Monitor Soil Water Status. *Journal of Water Resource and Protection*, v. 9, p. 566-577, 2017.

PEREIRA, Y.M.; MIRANDA, R.F.; ALVES JÚNIOR, J.; CASAROLI, D.; EVANGELISTA,

A.W.P. Calibração do sensor ECH2O, modelo EC-5 para Latossolo vermelho distrófico. *Global Science Technology*, v.11, n.03, p.68-76, set/dez. 2018.

PIZETTA, S.C.; RODRIGUES, R.R.; PEREIRA, G.M.; PACHECO, F.E.D.; VIOLA, M.R.; LIMA, L.A. Calibração de um sensor capacitivo para estimativa da umidade em três classes de solos. *Irriga*, v. 22, n. 3, p. 458-468, 2017.

RAMOS, F.T.; PIVETTA, F.; MATOS, V. A.T.; SEIXAS, G.B.; CAMPELO JÚNIOR, J.H. Acurácia e calibração de uma sonda de capacitância em um Neossolo Quartzarênico cultivado com caju. *Bionscience Journal*, v. 30, n. 6, p. 1631-1641, 2014.

RICHARDS, L.A.; FIREMAN, M. Pressure plate apparatus for measuring moisture sorption and transmission by soils. *Soil Science*, v.56, p. 395-404, 1943.

SILVA, B. M.; OLIVEIRA, G.C.; SERAFIM, M.E.; SILVA JÚNIOR, J.J.; COLOMBO, A.; LIMA, J.M. Acurácia e calibração de sonda de capacitância em Latossolo Vermelho cultivado com cafeeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 47, n. 2, p. 277-286, 2012.

SOUZA, C.F.; PIRES, R.C.M.; MIRANDA, D.B.; VARALLO, A.C.T. Calibração de sondas FDR e TDR para a estimativa da umidade em dois tipos de solo, *Irriga*, v. 18, n. 4, p. 597-606, 2013.

CAPÍTULO 05

MANEJO DA ADUBAÇÃO NA CULTURA DO MILHO APÓS SUCESSÃO COM TOMATEIRO E PASTAGENS.

Eugênio José da Silveira
Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG/ICA
Instituição: N & R Treinamentos e Projetos Agrossilvipastoris Ltda
Endereço: Rua Nemir Rabelo Vasconcelos, 55, Bairro Cacimba, Carmópolis de Minas Gerais-MG, CEP35.534-000, Brasil
E-mail: eugeniojosedasilveira@hotmail.com

Fernando da Silva Rocha
Doutor em Agronomia/Fitopatologia pela Universidade Federal de Lavras-UFLA
Instituição: Universidade Federal de Minas Gerais, *Campus* Montes Claros
Endereço: Avenida Universitária, 1.000, Bairro Universitário, Montes Claros-MG, CEP 39.404-547, Brasil
E-mail: rochafs@ufmg.br

Carlos Juliano Brant Albuquerque
Doutor em Agronomia/Fitotecnia pela Universidade Federal de Lavras-UFLA
Instituição: Universidade Federal de Minas Gerais, *Campus* Montes Claros
Endereço: Avenida Universitária, 1.000, Bairro Universitário, Montes Claros-MG, CEP 39.404-547, Brasil
E-mail: carlosjuliano@ufmg.br

Hugo Cesar Rodrigues Moreira Catão
Doutor em Agronomia/Fitotecnia pela Universidade Federal de Lavras-UFLA
Instituição: Universidade Federal de Uberlândia-UFU/ICA, *Campus* Glória
Endereço: Rodovia BR-050, KM 78, S/N, *Campus* Glória - Bloco CCG, Uberlândia-MG, CEP 38410-337, Brasil
E-mail: hugo.catao@ufu.br

Nayara Christina Almeida Araújo
Engenheira Agrícola e mestre em produção Vegetal pela Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG/ICA
Instituição: N & R Treinamentos e Projetos Agrossilvipastoris Ltda
Endereço: Rua Nemir Rabelo Vasconcelos, 55, Bairro Cacimba, Carmópolis de Minas Gerais-MG, CEP 35.534-000, Brasil
E-mail:nayara_christina15@hotmail.com

Cristiane Francisca Barbosa
Doutoranda em Ciências do solo pela Universidade Federal de Lavras-UFLA
Instituição: Universidade Federal de Lavras-UFLA
Endereço: Departamento de Ciência do Solo-UFLA, CEP 37.200-900, Lavras-MG, Brasil
E-mail: crisfbsp@gmail.com

Josiane Gonçalves Silva
Mestrado em Fitopatologia pela Universidade Federal de Viçosa-UFV
Instituição: Instituto Federal do Amapá, *Campus* Porto Grande-AP
Endereço: Rodovia BR 210, Km 103, sem número, Bairro Zona Rural, Porto Grande-AP, CEP68.997-000, Brasil
E-mail:josiane.silva@ifap.edu.br

RESUMO: O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho agronômico do milho em sucessão ao cultivo do tomateiro (*Solanum lycopersicum*) e pastagem (*Urochloa decumbens)* submetido a diferentes manejos de adubação no município de Carmópolis de Minas, MG. Para isso, foram estabelecidos 3 experimentos distintos em áreas contíguas, em sucessão a cultura do tomateiro e da pastagem sob diferentes manejos de adubação: 1) com adubação nitrogenada em cobertura na área em sucessão ao tomateiro e sem adubação de plantio; 2) sem adubação nitrogenada em cobertura na área em sucessão ao tomateiro e sem adubação de plantio; 3) sem adubação nitrogenada em cobertura na área em sucessão ao pasto e sem adubação de plantio NPK; 4) com adubação nitrogenada em cobertura na área em sucessão ao pasto e sem adubação de plantio NPK; 5) sem adubação nitrogenada em cobertura na área em sucessão ao pasto e com adubação de plantio NPK; 6) com adubação nitrogenada em cobertura na área em sucessão ao pasto e com adubação de plantio NPK. Cada experimento foi conduzido sob o delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições. O residual da adubação do tomateiro propicia redução na adubação do plantio do milho BR206 em sucessão. A prática da adubação nitrogenada de cobertura é de fundamental importância, pois é através desta que o milho consegue alcançar altas produtividades. O cultivo do milho sem correção de fertilidade do solo pode ocasiona perdas significativas na produtividade, independente da cultura em sucessão.

PALAVRAS-CHAVE: Produtividade; Grãos; Rotação; Fertilização; Manejo.

ABSTRACT: The objective of this work was to evaluate the agronomic performance of corn in succession to tomato (*Solanum lycopersicum*) and pasture (*Urochloa decumbens*) cultivation submitted to different fertilization management in the municipality of Carmópolis de Minas, MG. For this, 3 different experiments were established in contiguous areas, in succession to the culture of tomato and pasture under different fertilization managements: 1) with nitrogen fertilization in coverage in the area in succession to the tomato and without planting fertilization; 2) without nitrogen fertilization covering the area in succession to the tomato and without planting fertilization; 3) without nitrogen fertilization in cover in the area in succession to the pasture and without fertilization of NPK planting; 4) with nitrogen fertilization in cover in the area in succession to the pasture and without NPK planting fertilization; 5) without nitrogen fertilization in cover in the area in succession to the pasture and with NPK planting fertilization; 6) with nitrogen fertilization covering the area in succession to the pasture and with NPK planting fertilization. Each experiment was conducted under a randomized block design with four replications. The residual fertilization of tomato provides a reduction in the fertilization of the BR206 corn plantation in succession. The practice of nitrogen cover fertilization is of fundamental importance, as it is through this that corn is able to achieve high productivity. The cultivation of corn

without correction of soil fertility can cause significant losses in productivity, regardless of the crop in succession.

KEYWORDS: Productivity; Grains; Rotation; Fertilization; Management.

1. INTRODUÇÃO

A cidade de Carmópolis de Minas está localizada no centro-oeste de Minas Gerais a 120 km da capital Belo Horizonte, se destaca pela produção de olerícolas e pela pecuária de forma extensiva, sendo estas as principais atividades de importância econômica local. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a cidade possui uma área plantada de 600 hectares da cultura do milho, produzindo em seu total 2.700 toneladas de grãos e média de 4,5 t/ha. O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é a principal olerícola cultivada no local, sendo adotada intensa mão de obra e uso de insumos no cultivo, por isso exerce importância econômica e social. A área plantada da cultura do tomate é de 250 ha e produz um total de 20500 toneladas (IBGE, 2018).

A eficiência de absorção dos nutrientes é determinada por alguns fatores externos e internos à planta, como as características físicas do solo, disponibilidade de água, condições edofoclimáticas, capacidade de absorção de nutrientes pela cultura, entre outros (Sanchez, 1981). Desta forma, o plantio do milho (*Zea mays* L.) em sucessão ao tomateiro é uma alternativa para maximizar o aproveitamento dos resíduos da cultura anterior. Entre as principais vantagens desta prática se destacam: a melhoria da fertilidade do solo e com isso redução dos custos com adubos químicos ou orgânicos e a tolerância do solo a erosão entre outros (Campbell *et al.*, 1991).

Outro fator importante é a disponibilidade de nitrogênio (N) no solo durante o ciclo das culturas, devendo este ser fornecido principalmente em cobertura, quando a planta apresenta quantidade de raízes suficientes para garantir a absorção deste nutriente além de condições hídricas e nutricionais adequados. Sendo que, a deficiência deste nutriente no solo reflete na produtividade do milho, visto que é o nutriente mais exportado no seu cultivo (Fernandes *et al*., 1999).

Com o objetivo de determinar a produtividade de milho verde em um sistema de semeadura direta na sucessão milho/adubo verde e tomate/milho, tomando como testemunha os canteiros com tomate cereja, sem e com a presença da palha do milho, Ambrosano et al. (2016) concluíram que na presença de adubos verdes em cultivo solteiro houve aumentos no peso seco de palha de milho produzida e no peso da espiga com palha e sem palha, com destaque para o tremoço-branco. Contudo, verifica-se que em vários casos não há diferenças significativas entre o milho em sucessão a outras espécies que não sejam leguminosas. Ademais, nos últimos anos,

os estudos se limitaram às espécies leguminosas ou formadoras de palhada para sucessão, levando ao déficit de informações na literatura sobre outros cultivos para sucessão do milho.

Diante disso, este trabalho teve por objetivo avaliar o desempenho agronômico do milho em sucessão ao cultivo do tomateiro (*S. lycopersicum*) e pastagem (*U. decumbens)* submetido a diferentes manejos de adubação no município de Carmópolis de Minas, MG.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido durante o ano agrícola 2012/2013 no município de Carmópolis de Minas, MG, localizado a 1006 m de altitude, 44° 40' 00,89" de longitude Oeste e 20° 35' 53,93" de latitude Sul. O clima da região é temperado, chuvoso, com inverno seco. O solo da área experimental apresenta textura média, pertencente à classe de Latossolos Vermelho Amarelo distrófico húmico (LVAd).

Foi utilizada a variedade de polinização aberta de milho BR 206 devido grande uso por pequenos produtores na região. Foram implantados 3 experimentos distintos em áreas em áreas contíguas, em sucessão com a cultura do *S. lycopersicum* e *U. decumbens* sob diferentes manejos de adubação conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos em função do cultivo antecessor ao milho e adubação nitrogenada.

Experimentos	Sucessão	Manejo da Adubação no Milho
1	*S. lycopersicum* *S. lycopersicum*	Efeito residual com cobertura de nitrogênio (MCERCN) Efeito residual sem cobertura nitrogenada (MCERSN)
2	*U. decumbens* *U. decumbens*	Sem adubação de plantio e com adubação nitrogenada (MSAPCN) Sem adubação de plantio e sem cobertura nitrogenada (MSAPSN).
3	*U. decumbens* *U. decumbens*	Com adubação no plantio e com cobertura nitrogenada (MCAPCN) Com adubação no plantio e sem cobertura nitrogenada (MCAPSN).

Fonte: Os Autores

Cada experimento foi conduzido sob o delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições. A parcela experimental foi constituía de 4 linhas de 6 metros de comprimento com espaçamento entre fileiras de 1 metro sendo as duas linhas centrais consideradas como úteis para coleta dos dados.

O trabalho foi desenvolvido utilizando-se a área onde havia cultivado o tomateiro, para avaliação do efeito residual da adubação, e ao lado desta, em área de pastagem, onde se avaliou a área sem efeito residual, utilizando parcelas que receberam tratamento com NPK (02-12-09) e parcelas sem tratamento com NPK. Em ambas as áreas avaliaram-se o efeito da adubação nitrogenada de cobertura (0 e 140 kg.ha^{-1}). Anteriormente ao cultivo do tomateiro foi realizada a coleta de amostras de solo para a área total, sendo dez amostras simples formando uma composta e, essa encaminhada para o laboratório para análise do solo (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados da análise química e física das áreas experimentais antes da implantação do ensaio anteriormente, cultivadas com pasto e uma safra de tomate.

Atributos do solo		Amostras		
	Pastagem	Nível	Tomateiro	Nível
pH em água	4,9	Bx	5,9	B
P Mehlich (mg dm-3)	0,89	MBx	510,00	MB
P remanescente (mg L-1)	29,03		39,00	
K (mg dm-3)	35	Bx	348	MB
Ca (cmolc dm-3)	0,80	Bx	3,50	B
Mg (cmolc dm-3)	0,40	Bx	1,30	B
Al (cmolc dm-3)	0,60	M	0,00	MBx
H + Al (cmolc dm-3)	4,04	M	2,32	Bx
SB (cmolc dm-3)	1,20	Bx	4,80	B
t (cmolc dm-3)	1,80	Bx	4,80	B
m (%)	33	M	0	MBx
T (cmolc dm-3)	5,24	M	7,12	M
V (%)	23	Bx	67	B
M. O. (dag kg-1)	4,06	B	4,06	B
Carbôno Org. (dag kg-1)	2,36	M	2,36	M
Areia grossa (dag kg-1)	26,30		28,10	
Areia fina (dag kg-1)	24,70		26,00	
Silte (dag kg-1)	18,00		16,00	
Argila (dag kg-1)	31,00	Tme	30,00	Tme

MBx=muito baixo; Bx=baixo; B=bom; M=médio; A=alto; MB=muito bom; MA=muito alto; Ar=arenoso; Tme=textura média; 1 – amostra da área total onde se compreendeu a pesquisa e antes dos cultivos das culturas; 2 – amostra da área após o cultivo do tomateiro.

Após os resultados laboratoriais da amostra de solo, foi feita a correção dos solos apenas na área de pastagem. Utilizou-se o calcário dolomítico (PRNT 80 %) e a incorporação deste através de aração e gradagem, essa prática foi realizada no início do mês de setembro, para aumentar a saturação de bases do solo para 60% antes do plantio. A área havia sido cultivada apenas por uma safra com a cultura do tomateiro.

A temperatura que ocorreram durante a realização do experimento (de agosto de 2012 a julho de 2013) em relação a estação meteorológica de Divinópolis (mais próxima de Carmópolis de Minas/MG) variaram entre as médias máximas e mínimas 15,88ºC e 29,24ºC, com média de 22,15ºC. Enquanto a precipitação acumulada para este mesmo período foi de 1122,95 mm (INMET, 2013).

Em novembro de 2012, após o preparo convencional das áreas contínuas anteriormente ocupadas pelo tomateiro e pela pastagem, procedeu-se o plantio do milho nos diferentes experimentos e tratamentos descritos na Tabela 1. Utilizou-se

espaçamento do milho entre linhas de 1 m e entre plantas de 20 cm e população de 50.000 plantas ha^{-1}.

Na adubação de plantio foram aplicadas doses de 20 $kg.ha^{-1}$ de N, 120 $kg.ha^{-1}$ de P_2O_5 e 90 $kg.ha^{-1}$ de K_2O, as fontes nutricionais foram o sulfato de amônio (21 % de N), superfosfato simples (18 % de P_2O_5) e cloreto de potássio (58 % de K_2O), enquanto que a adubação de cobertura foi utilizado como fonte nitrogenada o sulfato de amônio, sendo realizada aos 46 dias após a emergência (DAE) do milho, isso devido a um déficit hídrico que se deu aos 31 (DAE) e se estendeu até 45 (DAE), as adubações foram realizadas apenas áreas em que apresentaram a necessidade para os tratamentos descritos anteriormente. A operação de controle de plantas daninhas foi realizada nas práticas de aração e gradagem, de incorporação da uréia agrícola no solo e nas áreas que não receberam a adubação foi realizada o controle mecânico. Após os procedimentos anteriores não foi realizada nenhuma prática na área de cultivo do milho até a colheita.

A colheita do milho aconteceu no mês de junho de 2013 para as três áreas realizadas. As variáveis analisadas foram: número de espigas (NES); peso de espigas com palha (PECP); peso de espigas sem palha (PESP); rendimento de grãos (RG); massa de 100 grãos (MG) e rendimento de espiga (RE). As espigas foram colhidas e debulhadas manualmente, os grãos foram obtidos separados das impurezas por meio da peneiração, acondicionados em sacos de papel e, em seguida pesados. A umidade real dos grãos de milho foi determinada pelo método da estufa a 105 ºC (±3 dias); o rendimento de grãos (kg ha^{-1}) foi ajustado para 13 % de umidade.

Os dados foram submetidos, inicialmente, a uma análise de variância individual por experimento. A princípio, foram realizados os testes de aditividade dos dados, normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias. Posteriormente, foi realizada análise de variância conjunta com os três experimentos. Os dados do ensaio foram submetidos a análise de variância pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade, utilizando-se o software SAEG 2010.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das características agronômicas analisadas estatisticamente através da análise de variância estão apresentados na Tabela 3. O coeficiente de variação para todas as variáveis foi baixo, conferindo a precisão do experimento. A

análise estatística constatou que houve efeito no cultivo do milho nos tratamentos com adubação residual do tomateiro e com adubação de plantio (NPK), ambos com e sem adubação nitrogenada de cobertura. Esses tratamentos apresentaram índices ligados à produtividade muitos superiores aos tratamentos sem adubação de plantio, sem efeito residual, ambos com e sem adubação nitrogenada de cobertura.

Os tratamentos, milho com efeito residual e milho com adubação de plantio, ambos com e sem adubação nitrogenada de cobertura apresentaram médias para as variáveis: número de espigas (NES) e rendimento de espigas (RE) superiores aos demais tratamentos (milho sem adubação de plantio com e sem adubação nitrogenada de cobertura). Esses resultados demonstram que a baixa fertilidade do solo é um dos principais fatores responsáveis pela baixa produtividade do milho (Coelho e França, 1995). As variáveis peso da espiga com palha (PECP) e peso da espiga sem palha (PESP) apresentaram médias superiores para os tratamentos milho com efeito residual com e sem adubação nitrogenada e milho com adubação de plantio e com adubação nitrogenada.

Tabela 3. Teste de médias das variáveis: número de espigas (NES); peo de espigas com palha (PECP); peso de espigas sem palha (PESP); rendimento de grãos (RG); massa de 100 grãos (MG) e rendimento de espiga (RE).

Tratamento	NES (unid./ha)	PECP (kg/ha)	PESP (kg/ha)	RG (kg/ha)	MG (g)	RE (%)
MCERCN	61.250 A	12.531,3 A	11.173,8 A	9.307,5 A	35,7 A	75.2 A
MCERSN	60.000 A	11.816,9 AB	10.365,0 A	8.713,8 A	35,1 A	75.0 A
MCAPCN	59.375 A	11.370,0 B	10.000,0 A	8.515,6 A	34,9 A	74.3 A
MCAPSN	58.125 A	8.141,3 C	7.323,1 B	5.765,6 B	28,8 B	71.2 A
MSAPCN	35.000 B	2.741,3 D	2.307,5 C	822,5 C	22,6 C	30.1 B
MSAPSN	0,0 C	0,0 E	0,0 D	0,0 C	0.0 D	0.0 C
CV (%)	6,895	5,792	9,27	6,679	2.624	8.098

* Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. MCERCN - milho com efeito residual com cobertura nitrogenada; MCERSN - milho com efeito residual sem cobertura nitrogenada; MCAPCN - milho com adubação no plantio e com cobertura nitrogenada; MCAPSN - milho com adubação no plantio sem cobertura nitrogenada; MSAPCN - milho sem adubação de plantio e com adubação nitrogenada e MSAPSN - milho sem adubação de plantio e sem cobertura nitrogenada.

Os resultados obtidos com as variáveis analisadas (NES, RE), as respostas ao tratamento solo com resíduos da fertilização do cultivo do tomate foram semelhantes ao tratamento com adubação de plantio (NPK) e cobertura com N recomendada pela 5ª aproximação (Alves *et al.*,1999), se diferindo do tratamento com adubação de plantio (NPK) sem cobertura com N, que por sua vez também diferiu dos tratamentos sem adubação de plantio com e sem adubação nitrogenada de cobertura. Importante destacar que a rotação de culturas é uma prática agronómica importante em todos os sistemas de agricultura. A alternância de culturas de espécies com características distintas ao nível morfológico, ciclo vegetativo e ao nível da sua resistência a pragas e doenças, contribui para o aumento da melhoria das características físicas, químicas e biológicas dos solos e consequentemente maior receita líquida da atividade (Nascente *et al.*, 2014).

Em relação à massa de 100 grãos (MG) e o rendimento de grãos (RG), o efeito de adubação de cobertura nitrogenada e áreas com e sem efeito residual foi significativo (Tabela 3). Os tratamentos que apresentaram as maiores médias quanto a este caráter foram MCERCN, MCERSN e MCAPCN, o que mostra que quanto maior o rendimento de grãos, maior é a massa unitária dos mesmos, assim sendo, melhor é o rendimento de espiga (RE). Estes resultados demonstram a importância da fertilidade do solo durante o cultivo do milho e que os resultados obtidos pelo cultivo aproveitando o efeito residual podem ser comprovados através da análise de solo da área após o cultivo do tomateiro Tabela 4.

Tabela 4. Características químicas e físicas do solo após os cultivos do tomateiro e milho após o tomateiro.

Atributos do solo		Amostras		
	Tomateiro	Nível	Milho	Nível
pH em água	5,9	B	5,5	B
P Mehlich (mg dm-3)	510,00	MB	310,00	MB
P remanescente (mg L-1)	39,00		41,03	
K (mg dm-3)	348	MB	179	MB
Ca (cmolc dm-3)	3,50	B	1,60	M
Mg (cmolc dm-3)	1,30	B	0,80	M
Al (cmolc dm-3)	0,00	MBx	0,10	MBx
H + Al (cmolc dm-3)	2,32	Bx	2,59	M
SB (cmolc dm-3)	4,80	B	2,86	M
t (cmolc dm-3)	4,80	B	2,96	M
m (%)	0	MBx	3	MBx
T (cmolc dm-3)	7,12	M	5,45	M
V (%)	67	B	52	M
M. O. (dag kg-1)	4,06	B	3,88	M
Carbôno Org. (dag kg-1)	2,36	M	2,25	M
Areia grossa (dag kg-1)	28,10		31,90	
Areia fina (dag kg-1)	26,00		21,70	
Silte (dag kg-1)	16,00		16,00	
Argila (dag kg-1)	30,00	Tme	30,40	Tme

MBx=muito baixo; Bx=baixo; B=bom; M=médio; A=alto; MB=muito bom; MA=muito alto; Ar=arenoso; Tme=textura média; 2 – amostra da área após o cultivo do tomateiro; 3 – amostra da área após o cultivo do milho em sucessão ao tomateiro.

Resultados semelhantes foram obtidos por Silva *et al.* (2000) em área cultivada com batata, em que verificaram que após o cultivo desta, persistiram resíduos de fertilizantes que influenciaram positivamente as características químicas do solo (aumentou os teores de P, K e Ca trocáveis) proporcionando maior produção de milho-verde quando cultivado em sucessão.

Tanto o tomate quanto a batata são culturas que possuem baixo índice de aproveitamento a adubação, com isso é necessário a aplicação de elevadas doses de adubos para obtenção de alta produtividade. Vários estudos relatam como estratégia para otimizar o uso dos fertilizantes à sucessão de culturas. Para todos os nutrientes avaliados observaram-se acréscimos significativos nos teores após o cultivo do tomate. Fato também observado por Silva *et al*. (2001) no cultivo sucessivo do feijão-de-vagem após a batata, onde os autores verificaram acréscimos de cálcio e fósforo após o cultivo da batata, devido a adubação realizada na mesma.

Já Costa *et al*. (2012), no cultivo sucessivo da cenoura após a cebola, verificaram acréscimos de fósforo, potássio, cálcio e magnésio após o cultivo da cebola. De acordo com os mesmos autores o efeito da adubação residual na cultura da cebola favoreceu uma maior relação custo/benefício, comprovando que o aproveitamento do adubo residual através da utilização de cultivos sucessivos é possível e pode trazer uma série de benefícios para o solo, meio ambiente e para o produtor.

Silva *et al*. (2001) constataram na sucessão de cultivo da batata com o feijão-de-vagem que, embora tenha havido resposta do feijão-de-vagem à adubação de plantio, os dados de produção com adubação de plantio foram semelhantes aos obtidos com o cultivo aproveitando-se o feito residual do cultivo da batata com a adubação equivalente a 4 t ha^{-1} da fórmula NPK (04-16-08). Já os pesquisadores Kikuti *et al*. (2002), afirmaram que para a cultura do milho em sucessão a batata, em latossolo distrófico, apenas com o uso da adubação residual da batata, a produção do milho foi consideravelmente boa e com a adição de adubação houve o aumento na produção de grãos.

No tratamento milho sem adubação de plantio com adubação nitrogenada de cobertura foram observadas médias menores nas variáveis analisadas (Tabela 3). Esses resultados podem estar relacionados à baixa fertilidade do solo que anteriormente era cultivado a forrageira *U. decumbens* (Tabela 2). Entretanto para o tratamento milho sem adubação de plantio sem adubação com N, as plantas de milho não se desenvolveram, com isso os resultados para as variáveis foram zero.

Isso pode ter ocorrido não só devido à baixa fertilidade do solo como também por falta de adubação nitrogenada e/ou efeito da população e desenvolvimento das plantas no momento consideradas daninhas (*U. decumbens* e *Cida* spp.), este último tratamento indica que a adubação, mesmo que apenas com N em cobertura favorece o crescimento e desenvolvimento ainda que reduzido da cultura do milho.

Segundo Ramos e Pitelli (1994) a produtividade da cultura do milho é influenciada pela densidade e padrão de crescimento das plantas daninhas, e que em baixa incidência não afetam a produtividade do milho. Afirma também que em condições de alta densidade populacional e vigor de crescimento, a interferência das plantas daninhas afeta especialmente a porcentagem de plantas com espiga e a produtividade de grãos da cultura do milho.

O fato das plantas do tratamento milho sem adubação de plantio e sem cobertura nitrogenada (MSAPSN) não terem se desenvolvido, pode ser atribuído à tendência da planta em apresentar porte baixo, menor área foliar e biomassa seca das folhas. Estes fatores favorecem a penetração da luz entre as linhas de cultivo, contribuindo para um melhor desenvolvimento das plantas daninhas, que pode ser confirmado pela maior biomassa da comunidade infestante quando conviveu com este cultivar. Santos *et al*. (1987) constataram que plantas de milho com porte baixo, permitiam um maior crescimento das plantas daninhas.

O manejo correto da adubação de cobertura torna-se de fundamental importância para os princípios da agricultura, buscando o fundamento da máxima eficiência do uso do N, de tal maneira, o estudo de tal adubação na cultura do milho é uma prática muito importante no aspecto da nutrição mineral da planta, o que leva a redução de custos na produção (Rambo *et al*., 2004). Segundo Neumann *et al*. (2005) a adubação nitrogenada de cobertura necessita além do manejo, também às condições climáticas, da capacidade de extração de nutrientes e água do solo, além é claro, do tipo de solo.

A literatura relata trabalhos que se distinguem em relação à resposta da produtividade do milho, a depender do sistema de manejo cultural empregado na cultura. Meira *et al*. (2009) obtiveram em cultivo convencional maiores produtividades com a aplicação de N em cobertura nas quantidades de 90-120 $kg.ha^{-1}$, enquanto Veloso *et al*. (2006) observaram maior índice produtivo de grãos na dose de 180 $kg.ha^{-1}$. Já no sistema de plantio direto, Silva *et al*. (2006), obtiveram máxima eficiência da adubação nitrogenada nas doses de 144 e 149 $kg.ha^{-1}$ em plantio sucessivo à crotalária e no pousio, respectivamente, sendo estes valores de adubação os que mais se aproximam da dose utilizada neste experimento. Já em condições de irrigação, Pavinato *et al*. (2008) alcançaram maior índice produtivo utilizando dose máxima de 280 kg. ha^{-1}.

De acordo com Sousa (2008), o milho exige o uso de adubação de nitrogênio para complementar a quantidade de N suprida pelo solo, para se atingir maiores produtividades. O mesmo autor obteve em cultivares avaliados um aumento na produtividade devido a adubação nitrogenada em cobertura, obtendo um incremento médio de 95 % variando entre 26 % e 235 % na produtividade.

Outro fator a ser levado em consideração são as condições edafoclimáticas, onde segundo Ohland *et al*. (2005) os resultados demonstraram que a massa de grãos é uma característica influenciada pelo genótipo e pelas condições edafoclimáticas durante a fase de enchimento dos grãos. As temperaturas e precipitações registradas durante o período, foram favoráveis para pleno desenvolvimento da cultura do milho. Comparando as temperaturas médias e máximas durante o experimento, essas são consideradas ideias para o desenvolvimento, desde a emergência até a floração que compreende a faixa de 24 ºC a 30 ºC (EMBRAPA, 2018). Nessa pesquisa também foi levado em consideração à disponibilidade de água no solo para a manutenção da cultura e para os devidos tratos culturais. Houve um atraso no controle de plantas daninhas e da adubação de cobertura com N, devido a um déficit hídrico de seis dias, mas que não afetou o desenvolvimento das plantas. Outro déficit hídrico que ocorreu com maior intensidade foi observado no mês de fevereiro, com duração de 21 dias, que incidiu no período de enchimento dos grãos, e que, portanto, ainda se obteve alta produção de grãos (Tabela 3). Bergamaschi *et al*. (2004); Matzenauer *et al*. (1995) e Medeiros *et al*. (1991) avaliaram o impacto do déficit hídrico no período crítico da cultura do milho, que compreende desde a pré-floração até o início do enchimento dos grãos. Estudos de Bergamaschi *et al*. (2006), afirmam que o déficit hídrico tem maior impacto sobre o rendimento de grãos de milho quando ocorre no período de florescimento, esse fator de dependência da produção de grãos foi observado por Shussler e Westgate (1991) e Zinselmeier *et al*. (1995) onde estes afirmam que o milho possui alta sensibilidade ao déficit hídrico no período que compreende os processos fisiológicos ligados à formação do zigoto, portanto o desenvolvimento inicial dos grãos. O suprimento hídrico adequado próximo ao pendoamento-espigamento do milho é um fator suficiente para que o rendimento de grãos da cultura seja elevados (Bergamaschi *et al*., 2004).

4. CONCLUSÕES

O residual da adubação do tomateiro propicia redução na adubação do plantio do milho BR206 em sucessão.

A prática da adubação nitrogenada de cobertura é de fundamental importância, pois é através desta que o milho consegue alcançar altas produtividades.

O cultivo do milho sem correção de fertilidade do solo pode ocasionar perdas significativas na produtividade independente da cultura em sucessão.

REFERÊNCIAS

ALVES, V. M. C.; VASCONCELLOS, C. A.; FREIRE, F. M.; PITTA, G. V. E.; FRANÇA, G. E.; RODRIGUES FILHO, A.; ARAÚJO, J. M.; VIEIRA, J. R.; LOUREIRO, J. E. Milho. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARAES, P. T. G.; ALVAREZ V., V. H. (Ed.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais:** 5ª aproximação. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. 359p.

AMBROSANO, E.J; ROSSI, F; DIAS, F.L.F. Produtividade do milho na sucessão de milho/adubos verdes e tomate cereja/milho. **Pesquisa e Tecnologia**, v.13, n.1, p.6, 2016.

BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; BERGONCI, J. I.; BIANCHI, C.A.M.; MULLER, A. G.; COMIRAN, F.; HECKLER, B. M. M. Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 831-839, 2004.

BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; COMIRAN, F.; BERGONCI, J. I.; MULLER, A. G.; FRNÇA, S.; SANTOS, A. O.; RADIN, B.; BIANCHI, C. A. M.; PEREIRA, P. G. Deficit hídrico e produtividade na cultua do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Porto Alegre, RS, v.41, n.2, p. 43-249, 2006.

CAMPBELL, C.A.; BIEDERBECK, V.O.; ZENITNER, R.P.; LAFOND, G.P. Effect of crop rotations and cultural practices on soil organic matter, microbial biomass and respirations in a thin back chernozem. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v.71, n.3, p.363-376, 1991.

COELHO, A.M.; FRANÇA, G.E. **Seja o doutor do seu milho: nutrição e adubação**. 2.ed. Piracicaba: Potafos, 1995. 9p.

COSTA, N. L.; SILVA, A. R.; GRANGEIRO, L. C. Efeito residual da adubação da cebola no rendimento de cenoura. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, Campina Grande-PB, v.8, n.1, p.07-11, 2012.

EMBRAPA – **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Disponivel em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/milho/arvore/CONTAG01_17_168200511157.html>. Acesso em 04 de Março de 2019.

FERNANDES, L. A.; VASCONCELOS. C. A.; FURTINI NETO, A. E.; ROSCOE, R.; GUEDES, G. A. de A. Preparo do solo e adubação nitrogenada na produção de grãos e matéria seca e acúmulo de nutrientes pelo milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF, v.34, p.1691-1698, 1999.

IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg/carmopolis-de-minas/pesquisa/14/10193?tipo=ranking&indicador=10356>. Acesso em 04 de Março de 2019.

KIKUTI, H.; ANDRADE, M. J. B.; RAMALHO, M. A. P. Resposta diferencial de cultivares de milho ao efeito residual da adubação da batata. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras-MG, v. 26, n.1, p.108-116, 2002.

MATZENAUER, R.; BERGAMASCHI, H.; BERLATO, M. A.; RIBOLDI, J. Modelos agrometeorológicos para estimativa do rendimento de milho em função da disponibilidade hídrica no Estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF, v. 1, p. 225 – 241, 1995.

MEDEIROS, S. L. P.; WESTPHALEN, S. L; MATZENAUER, R.; BERGAMASCHI, H. Relação entre evapotranspiração e rendimento de grãos de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF, v. 26, p.1-10, 1991.

MEIRA. F. A.; BUZETTI. S.; ANDREOTTI. M.; ARF. O.; SÁ. M. E.; ANDRADE. J. A. C. Fontes e épocas de aplicação do nitrogênio na cultura do milho irrigado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 275-284, 2009.

NASCENTE, S.T; SILVEIRA, P.M; JUNIOR, M.L; SANTOS, G.G; CUNHA, P.C.R. Atributos químicos de latossolo sob plantio direto afetados pelo manejo do solo e rotação de culturas. **Revista Caatinga**, Mossoró-RN, v. 27, n.4, p.153-163, 2014.

NEUMANN, M.; SANDINI, I. E.; LUSTOSA, S. B. C.; OST, P. R.; ROMANO, M. A.; FALBO, M. K.; PANSERA, E. R. Rendimentos e componentes de produção de plantas de milho (*Zea m*ays L.) para silagem, em função de níveis de adubação nitrogenada em cobertura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas-MG, v.4, n.3, p.418-427, 2005.

OHLAND, R. A. A. et al. Culturas de cobertura do solo e adubação nitrogenada no milho em plantio direto. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras-MG, v. 29, n. 3, p. 538-544, 2005.

PAVINATO, P. S.; CARETTA, C. A.; GIROTTO, E.; MOREIRA, I. C. L. Nitrogênio e potássio em milho irrigado: análise técnica e econômica da fertilização. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v. 38, n.2, p.358-364, 2008.

RAMBO, L.; SILVA, P. R. F.; ARGENTA, G.; SANGOI, L. Parâmetros de plantas para aprimorar o manejo da adubação nitrogenada de cobertura de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v.34, n.5, p.1637-1645, 2004.

RAMOS, L. R. M.; PITELLI, R. A. Efeitos de diferentes períodos de controle da comunidade infestante sobre a produtividade da cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF, v.29, n.10, p.1523-1531, 1994.

SANCHEZ, P.A. **Suelos del tropico: caracteristicas y manejo**. Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura**,** San José, Costa Rica, n.1. p. 491-542, 1981.

SANTOS, J. A. C.; ANDRADE, M. A.; ANDRADE, L. A. B.; ABREU, A. R. Influência de portes de cultivares, número de capinas e épocas de colheita sobre a incidência de plantas daninhas e produção de grãos de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF, v. 22, n.5, p.501-503, 1987.

SCHUSSLER, R. J.; WESTGATE, M. E. Maize kernel set at low potential. I. Sensivity to reduced assimilates during early kernel growth. **Crop Science**, Madison, v. 31, p.1189-1195, 1991.

SILVA, E. C.; MURAOKA, T.; BUZETTI, A.; TRIVELIN, P. C. O. Manejo de nitrogênio no milho sob plantio direto com diferentes plantas de cobertura, em Latossolo Vermelho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 41, n.3, p.477-486, 2006.

SILVA, E. C.; SILVA FILHO, A. V. S.; ALVARENGA, M. A. R. Efeito residual da adubação da batata sobre a produção do milho-verde em cultivo sucessivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF, v. 35, n. 11, p. 2151-2155, 2000.

SILVA. E. C., SILVA FILHO. A. V., ALVARENGA. M. A. R., Efeito residual da adubação efetuada no cultivo da batata sobre a produção do feijão-de-vagem. **Horticultura Brasileira**, Brasília-DF, v.19, n.3, p.180-183, 2001.

SOUSA. A. L. B., **Efeito da Adubação Nitrogenada em Cobertura em Variedades e Híbridos de Milho em Cerrado de Humaitá-AM**. 2008, 66f. Dissertação (Mestrado em Agricultura no Trópico Úmido) Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM, 2008.

VELOSO, M. E. C.; DUARTE, S.N.; DOURADO NETO, D.; MIRANDA, J.H.; SILVA, E. C.; SOUSA, V. F. Doses de nitrogênio na cultura do milho, em solos de várzea, sob sistema de drenagem subterrânea. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas-MG, v.5, n.3, p. 382-394, 2006.

ZINSELMEIER, C.; WESTGATE, M. E.; JONES, R. J. Kernel set at low water potential does not vary with source sink/ratio in maize. **Crop Science**, Madison, v.5, p.158-164, 1995.

CAPÍTULO 06

EFEITO DA DUREZA DA ÁGUA DE CULTIVO E DENSIDADE INICIAL DE JOVENS DE DAPHNIA MAGNA NA PRODUÇÃO DE OVOS DE RESISTÊNCIA.

Arléia Medeiros Maia
Zootecnista pela Universidade Federal do Piauí (UFPI)
Mestranda em Zootecnia pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) Instituição: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ
Endereço: Rodovia BR465, Km 07, s/n, Zona Rural, Seropédica, RJ, 23890-000
E-mail: arleiamedeirosmaia2017@gmail.com

Luis Ricardo Romero Arauco
Biólogo, Doutor em Aquicultura pela Universidade Estadual Paulista (FCAV / UNESP) Professor Adjunto I na Universidade Federal do Piauí (UFPI)
Instituição: Universidade Federal do Piauí – UFPI
Endereço: Rodovia BR135, Km 03, s/n, Zona Rural, Bom Jesus, PI, 64900-000
E-mail: luisricardora@gmail.com

José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta
Zootecnista pela Universidade Federal do Piauí (UFPI)
Mestre em Zootecnia pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)
Doutorando em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista (FCAV / UNESP)
Instituição: Universidade Estadual Paulista - UNESP
Endereço: Estrada da Barrinha, 888, ap14 – Vila Industrial, 14884-900
E-mail: luiz.pimenta@unesp.br

Gabriela Gomes da Silva
Zootecnista pela Universidade Federal do Piauí (UFPI) Mestranda em Zootecnia pela Universidade Federal do Piauí (UFPI)
Instituição: Universidade Federal do Piauí – UFPI
Endereço: Rodovia BR135, Km 03, s/n, Zona Rural, Bom Jesus, PI, 64900-000
E-mail: gabigomesbj@gmail.com

Raquel Maria da Conceição Santos
Bióloga pela Universidade Federal do Piauí (UFPI) Instituição: Universidade Federal do Piauí – UFPI
Endereço: Rodovia BR135, Km 03, s/n, Zona Rural, Bom Jesus, PI, 64900-000
E-mail: raquelmariabio@gmail.com

RESUMO: O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da dureza da água de cultivo e a densidade inicial jovens de *Daphnia magna* na produção de ovos de resistência de *Daphnia magna.* O experimento realizou- se no setor de piscicultura do Campus Professora Cinobelina Elvas - UFPI. Foram testadas 3 densidades de cultivo D1=30; D2=60 e D3=120 daphnias jovens por $18L^{-1}$ cultivadas em tanques cônicos translúcidos cor azulado com capacidade para $20L^{-1}$, preenchidas com água de posso artesiano repousada por uma semana e modificada a dureza para DR1= 250mg/L;

DR2= 260 e DR3= 270mg/L de $CaCO_3$ de água de cultivo, com as soluções 1,2 e 3 utilizadas na preparação do meio básico M4 a fotoperíodo natural e temperatura ambiente. Foram monitorados uma vez por semana os parâmetros a qualidade da água: temperatura (°C), pH, oxigênio dissolvido (mg/L^{-1}) e condutividade elétrica (µS/cm), com auxílio de um oxímetro (YSI, USA) e pHmetro (YSI, USA), a amônia (NH_3) ppm e o nitrito Nitrito(NO_2^-) ppm utilizando um Kit da marca Labcon Test. 50 % da água foi drenada e reposta uma vez por semana. Após de 23 dias foram coletados os ovos de resistência e com esses dados foi realizada a análise estatística. Na densidade inicial de 120 jovens de *Daphnia magna*/18 L^{-1} nos tanques de cultivo a maior produção média foi de 98,00 ovos de resistência sendo a dureza da água de cultivo de 260 mg/L de $CaCO_3$. As densidades iniciais 30 e 60 jovens de *Daphnia magna*/18L^{-1} não diferem entre sim na produção de ovos de resistência e diferem significativamente p>0,05 com a densidade inicial de 120 jovens/18 L^{-1} cultivadas em água de cultivo de 260 mg/L de $CaCO_3$. A produção de ovos de resistência de *Daphnia magna* pode realizada em água de cultivo com dureza de 260mg/L^{-1} e densidade inicial de cultivo, de 120 jovens/18 L^{-1} nas condições testadas.

PALAVRAS-CHAVE: cladocera, efípios, microcrustáceo, pulga de água.

ABSTRACT: The objective of the work was to evaluate the effect of hardness of the growing water and the initial density of 88nda *Daphnia magna* in the production of *Daphnia magna* resistance eggs. The 88nda t88ente was carried out in the fish farming sector of the *Campus* Professora Cinobelina Elvas – UFPI. Three crop densities D1 = 30 were tested; D2 = 60 and D3 = 120 young daphnias per 18L^{-1} grown in translucent blue-colored conical tanks with a capacity of 20L-1, filled with artesian water resting for a week and changed the hardness to DR1 = 250mg / L; DR2 = 260 and DR3 = 270mg / L of $CaCO_3$ of culture water, with solutions 1,2 and 3 used in the preparation of the basic M4 at natural photoperiod 88nda t room temperature. Water quality parameters were monitored once a week: temperature (° C), pH, dissolved oxygen (mg / L-1) and electrical conductivity (µS / cm), with the aid of an oximeter (YSI, USA) and pHmeter (YSI, USA), ammonia (NH_3) ppm and nitrite Nitrite (NO2-) ppm using a Labcon Test kit. 50% of the water was drained and replenished once a week. After 23 days, resistance eggs were collected and with these data, statistical analysis was performed. At the initial density of 120 youngsters of *Daphnia magna* / 18 L^{-1} in the cultivation tanks, the highest average production was 98.00 resistance eggs and the hardness of the cultivation water was 260 mg / L of $CaCO_3$. The initial densities 30 and 60 young of *Daphnia magna* / 18L^{-1} do not differ between themselves in the production of resistance eggs and differ significantly p> 0.05 with the initial density of 120 young / 18 L^{-1} grown in water from 260 mg / L of $CaCO_3$. The production of *Daphnia magna* resistance eggs can be carried out in culture water with a hardness of 260mg / L^{-1} and initial culture density of 120 young / 18 L^{-1} under the conditions tested.

KEYWORDS: cladocera, epiphytes, microcrustacean, water flea.

1. INTRODUÇÃO

Daphnia magna é um microcrustáceo comum no meio aquático usado como alimento na criação de alevinos de peixes (PAUW et al., 1981) que garante um alto rendimento nutricional (WATANABE *et al*, 1983; HOFF e SNELL, 1999).

Seu ciclo biológico é curto, reproduz-se por partenogênese e é de fácil manejo no laboratório (ABNT, 1993; CETESB, 1991; KOVISTO, 1995; IBAMA, 1987), ocorrendo em diversos ecossistemas da Europa e Estados Unidos (BROOKES, 1957; PENNAK, 1953) e quando cultivadas em laboratório, apresentam sensibilidade definida (ARAUCO, 2002).

As fases do ciclo reprodutivo de *Daphnia magna* são tanto sexuadas e assexuais. Na maioria dos ambientes, existem populações compostas exclusivamente por fêmeas que se reproduzem assexuadamente.

Uma única fêmea pode produzir muitas desovas, sendo que os ovos apresentam casca fina e são produzidos sob condições ambientais favoráveis, o desenvolvimento embrionário é rápido e a eclosão pode ocorrer no interior da bolsa incubadora, na qual os jovens podem permanecer por um curto período, o desenvolvimento é direto e liberado da câmara incubadora mediante flexão ventral do pós-abdômen da fêmea (RUPPERT e BARNES, 1996).

Sob condições ótimas, tem sido relatado que Daphnias podem produzir mais de 100 ovos por ninhada e uma ninhada a cada 2,5 a 3 dias. Uma fêmea pode ter até 25 ninhadas em sua vida (IVLEVA, 1969). Os ovos de resistência, ou diapausa (dormentes) de *Daphnia magna*, são uma adaptação para a sobrevivência em ambientes efêmeros ou periodicamente inóspitos. A casca espessa permite que o ovo ou o embrião sobreviva nos períodos durante os quais a atividade e o metabolismo normais não seriam possíveis, dentro desses ovos a quantidade de água é menor que 1% e a taxa metabólica é reduzida a quase zero (RUPPERT e BARNES, 2005)

Os estímulos ambientais para que as fêmeas de *Daphnia magna* produzam ovos haploides dos quais eclodem machos são: deficiência alimentar, falta de oxigênio, alta densidade populacional, temperatura baixa e fotoperíodos de 20 horas ou 4 horas. Com os machos presentes na população, acasalamento passam a ocorrer e as fêmeas passam a produzir ovos de resistência fertilizados e diploides. Apenas dois desses ovos, um de cada ovário, são produzidos em uma única desova. Estes são liberados na câmara incubadora, cujas paredes encontram-se agora transformadas em

uma cápsula protetora conhecida como efípio. O efípio é liberado na muda seguinte, separando-se completamente ou permanecendo com o resto da exuvia (IVLEVA, 1969, RUPPERT e BARNES, 1996). Os efipios podem ser encontrados no fundo de lagos ou junto à costa. Eles podem ser secos ao ar e armazenados de 1 a 5º C, permanecendo viáveis mesmo quando congelados (IVLEVA, 1969).

Pesquisas relacionadas à produção de ovos de resistência de *Daphnia magna* são muito importantes na piscicultura comercial, pois facilita o seu uso na aquicultura, ecotoxicologia aquática e como modelo biológico no ensino da biologia. Com base nisso, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da dureza da água de cultivo e a densidade inicial de jovens de *Daphnia magna* na produção de ovos de resistência.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de Piscicultura do Campus Professora Cinobelina Elvas, da Universidade Federal do Piauí (CPCE- UFPI), Bom Jesus, PI. As Daphnias foram cultivadas em recipientes plásticos transparentes cilindro-cônico com volume útil de $20L^{-1}$, preenchidas com água de poço artesiano repousada por uma semana e modificada a dureza adicionando as soluções da tabela 1 na proporção de: Solução 1 = 4 mL / L; Solução 2 = 1 mL / L; Solução 3 = 1 mL / L a fotoperíodo natural e temperatura ambiente durante 23 dias.

Foram testadas três concentrações de durezas (DR) da água dos tanques de cultivo: DR1= 250 mg / L; DR2= 260 mg / L e DR3= 270 mg / L de $CaCO_3$ de água de cultivo.

A dureza DR1, da água de cultivo das Daphnias, foi determinada de acordo com as recomendações de (KNIE e LOPES, 2004) para a preparação da água de cultivo para *Daphnia magna*.

A dureza do meio básico (M4) apresenta uma concentração de 250mg / L de $CaCO_3$ (KNIE e LOPES, 2004).

Para a modificação da dureza da água dos tanques de cultivo, foi adicionada as soluções 1,2 e 3 utilizadas na preparação do meio básico M4 para cultivo de *Daphnia magna* proposto por (KNIE e LOPES, 2004) que apresenta a seguinte composição (Tabela 1).

Tabela 1. Soluções -estoque para o preparo do meio Básico e do meio M4

Soluções do meio Básico				
Soluções	Reagente	Fórmula	Quantidade mg/L	Preparo
1	Cloreto de cálcio di-hidratado	$CaCl.2H_2O$	735.00	Dissolver e diluir a 1000 mL com água deionizada.
2	Sulfato de magnésio hepta-hidratado	$MgSO_4.7H_2O$	123.300	Dissolver e diluir a 1000 mL com água deionizada.
3	Cloreto de potássio	KCl	58.000	Dissolver e diluir a 1000 mL com água deionizada.

Fonte: Os Autores

Foram testadas 3 densidades de cultivo D_1= 30; D_2= 60 e D_3=120 Daphnias jovens por 18 L. A densidade, D_1 foi determinada de acordo com as recomendações de (IVLEVA, 1969; KNIE e LOPES, 2004) onde os organismos não produzem efipios.

A qualidade da água foi avaliada e verificada uma vez por semana. Os parâmetros avaliados foram: temperatura (°C), pH, oxigênio dissolvido (mg/L^{-1}) e condutividade elétrica (µS/cm), com auxílio de um oxímetro (YSI, USA) e pHmetro (YSI, USA), a Amônia (NH_3) ppm e o Nitrito (NO_2^-) ppm foram avaliados uma vez por semana utilizando um Kit da marca LabconTest. A limpeza dos tanques de cultivo foi realizada uma vez por semana e reposta a água evaporada, assim como restituída a dureza da água de cultivo.

O alimento utilizado para o cultivo das Daphnias foi a microalga *Scenedesmus subspicatus* e ração para peixe fermentada na proporção de $1mL^{-1}$ de ração fermentada mais *Scenedesmus subspicatus* atingindo uma densidade de $10x10^6$células / mL^{-1} nos tanques de cultivo uma vez por dia as dez horas da manhã durante o período experimental.

A biomassa de microalga *Scenedesmus subspicatus* foi obtida a partir de culturas mantidas no setor de piscicultura do *Campus* Professora Cinobelina Elvas, da Universidade Federal do Piauí (CPCE- UFPI), Bom Jesus, PI.

A ração fermentada foi preparada a partir de ração comercial (AlconBasig®) para peixe e complexo “B’’ (Bayer) composto por: B1 (7 mg), B2 (7 mg), B6 (5 mg), B12 (33 mg) e H (1mg), diluído em água doce e deixado sob aeração durante uma semana e logo filtrada e colocada num recipiente dentro da geladeira para sua conservação.

Após de 23 dias foram coletados os ovos de resistência do fundo dos tanques de cultivo e com esses dados foi realizada a análise de variância.

O experimento foi conduzido em delineamento fatorial 3 x 3 com três repetições: onde os fatores foram as três densidades de cultivo das D_1= 30; D_2= 60 e D_3=120 Daphnias jovens por 18 litros e três concentrações de dureza da água de cultivo DR_1= 250; DR_2= 260 e DR_3= 270mg / L de $CaCO_3$.

Os resultados obtidos da produção dos ovos de resistência ou efipios foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação de médias, ao nível de 5 % através do programa ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2016).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variáveis físico-químicas da água permaneceram dentro dos limites recomendados para o desenvolvimento da *Daphnia magna.*

Os resultados da análise de variância dos valores da dureza da água de cultivo e da densidade inicial de jovens de *Daphnia magna* encontram-se na Tabela 2.

Verifica-se nestes dados os efeitos significativos da densidade de jovens de *Daphnia magna* / l8 L^{-1} e da dureza da água de cultivo estudado e da interação entre ambos.

Tabela 2. Análise de variância do número de ovos de resistência produzidos no cultivo de *Daphnia magna* a três densidades de cultivo e três concentrações de dureza da água de cultivo

Causas de variação	**G.L.**	**S.Q.**	**Q.M.**	**F**
Densidade de jovens de *D. magna*/18L^{-1} (DE)	2	8951,18	4475,59	3,90*
Dureza da água de cultivo (DU)	2	1508,96	754,48	0,65ns
Interação (DE) x (DU)	4	13837,92	3459,48	3.01*

*significativo ao nível de 5 % de probabilidade ($p \leq 0,05$), ns - não significativo ($p \geq 0,5$); C.V. = 85,70(%); G.L= Grau de liberdade; S.Q.= Soma dos quadrados; Q.M.= Quadrado médio; DE=densidade; DU= dureza da água de cultivo.

Na Tabela 3 verifica-se que a produção de ovos de resistência de *Daphnia magna* com densidade inicial de 30 jovens / 18 L^{-1} nos tanques de cultivo a maior produção média foi de 27,66 ovos de resistência sendo a dureza da água de cultivo de 270 mg / L de $CaCO_3$.

Na densidade inicial de 60 jovens / 18 L^{-1} nos tanques de cultivo a maior produção média foi de 79,00 ovos de resistência sendo a dureza da água de cultivo

de 250 mg / L de $CaCO_3$. E na densidade inicial de 120 jovens / 18 L^{-1} nos tanques de cultivo a maior produção média foi de 98,00 ovos de resistência sendo a dureza da água de cultivo de 260 mg / L de $CaCO_3$.

Tabela 3. Desdobramento dos graus de liberdade dos fatores na produção de ovos de resistência de *Dapfnia magna* a três densidades de cultivo e três concentrações de dureza da água de cultivo

Densidade inicial de jovens de *Daphnia magna* nos tanques de cultivo	Dureza da água de cultivo mg/L de $CaCO_3$		
	250	260	270
30	10,33 aA	4,66 bA	27,66aA
60	79,00 aA	22,66 bA	42,33 aA
120	52,66 aAB	98,00 aA	18.33 aB

Médias seguidas por mesmas letras nas linhas e coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade.

Pode se observar que todas as condições de dureza e densidades iniciais de jovens de *Daphnia magna*, nos tanques de cultivo produzem ovos de resistência sendo que a densidade inicial de 120 jovens / 18 L^{-1} e dureza da água de cultivo de 260 mg / L de $CaCO_3$ é a melhor condição para produzir ovos de resistências, diferente as observações de Tagliari (2012) que observou maior produção de ovos de resistência de *Daphnia magna* em meio de cultivo com dureza de 175 mg / L de $CaCO_3$, não existem dados ou trabalhos similares para discutir nossos resultados, concordando com Magalhães (2009) que menciona que poucos estudos analisaram as diferenças morfológicas e fisiológicas entre ovos partenogenéticos ou subcutâneos em relação aos ovos de resistência.

Não existe diferença significativa entre as densidades iniciais de cultivo de 30 e 60 e 120 jovens de *Daphnia magna* / 18L^{-1} e dureza da água de cultivo de 250 e 270 mg/L de $CaCO_3$ na produção de ovos de resistência ou efipio.

As densidades iniciais 30 e 60 jovens de *Daphnia magna* / 18L^{-1} não diferem entre sim na produção de ovos de resistência e diferem significativamente $p>0,05$ com a densidade inicial de 120 jovens / 18 L^{-1} sendo cultivadas em água de cultivo de 260 mg / L de $CaCO_3$.

A produção de ovos de resistência em água com dureza de 250, 260 e 270 mg / L de $CaCO_3$ e densidades iniciais de cultivo de 30 e 60 jovens de *Daphnia magna*/18L^{-1} não diferem entre sim.

A produção de ovos de resistência com densidade inicial de 120 jovens / 18 L^{-1} em água com dureza de 260, 250 não diferem significativamente entre sim, e difere significativamente $p>0,05$ em água com dureza 270 mg / L de $CaCO_3$ e a produção de ovos de resistência com densidade inicial de 120 jovens / 18 L^{-1} em água com dureza de 250 e 270 mg / L de $CaCO_3$ não apresenta diferencia significativa.

Foi observado que após de 23 dias de cultivo toda a população de Daphnias morreu concordando com Tagliari (2012) que indica que a produção de ovos de resistência indica que a produção de ovos de resistência ocasiona a morte dos progenitores e devido a esta dinâmica e necessária a adição de novos juvenis provenientes de outros cultivos.

CONCLUSÃO

A produção de ovos de resistência de *Daphnia magna* pode ser realizada em água de cultivo com dureza de 260mg / L^{-1} e densidade inicial dedo cultivo de 120 jovens / 18 L^{-1} nas condições testadas.

REFERÊNCIAS

ARAUCO, L. R. R. Toxicidade aguda do sulfato de cobre e do triclorfon para três espécies de daphnias em presença e ausência de sedimento / Luis Ricardo Romero Arauco. **Dissertação**. Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal – SP. Outubro de 2002, pg. 86.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TECNICAS (ABNT). Água - Ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876, (*Cladocera, Crustácea*). **NBR 12713**, 1993, 16 p.

BROOKES, J.L. The systematizes of North Americam Daphnia In: MEMOIRS. **Connevticut Academmy of Arts & Sciences**, vol 13. 180p.

CETESB. **Água: teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, Cladocera, Crustácea.** São Paulo, 1991, p.1-17.

HOFF, H.F. e SNELL, W.T. Plankton Culture Manual, **Florida Aqua Farms**, Inc. 160p. 1999. IBAMA. **Avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia similis*: Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos.** Brasília, p.1-14, 1987.

IVLEVA, Y. V. 1969. Mass cultivation of invertebrates, Biology, and Methods. **Academic Science**. URSS. Hidrobiol. Soc. 148 pp.

KNIE, J.L.W. e LOPES, E. W. B. Testes Ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis: **FATMA / GTZ**, 2004. 289p, 2004.

KOVISTO, S. Is Daphnia an ecologically representative zooplankton species in toxicity tests. **Emvironmental Pollution**, Washigton, v. 90, n.2, n.2, p.263-267, 1995.

MAGALHÃES, J. S. Estrutura do Banco de Ovos de Resistência em Sistemas Aquáticos Continentais e Influência da Salinidade e da Predação na Diapausa. 2009. 73p. **Tese** (Doutorado em ecologia) Universidade Federal do Rio de Janeiro.

PAUW, M.; LAUREYS.; MORALES, J. Mass cultivatios of *Daphnia magna* Straus on ricebram. **Aquaculture**, Amsterdam. V. 25, p.141-2, 1981.

PENNAK, R. W. **Freshwater Invertebrates of the Uniteds States**, 1953, 769p.

RUPPERT, E.E.; BARNES, R.D. **Zoologia dos Invertebrados**. 6ª ed. São Paulo: Roca, 1996. 1029p. SILVA, F. AZEVEDO, C. The assistat software version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, n. 39, p.3733-3740, 2016.

TAGLIARI, G. P.O. Produção e viabilidade de ovos de resistência do Cladocera *Daphnia magna* em cultivo extensivo. 2012. 49p. **Monografia** (Curso de Oceanografia) Universidade do Vale de Itajai - UNIVALI.

WATANABE, T., KITAJIMA, C. and FUJITA, S., 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. **Aquaculture**, p.115-143.

CAPÍTULO 07

TECNOLOGIA NO ENSINO DE QUÍMICA: USO DE WEBQUEST NO ENSINO APRENDIZAGEM DE CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS.

Elenildo Gonçalves de Sousa
Mestre em Química pela Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC/Brasil).
Instituição: Professor do Centro Territorial de Educação Profissional do baixo sul – CETEP/BA.
Endereço: Rua Manoel Moreira Barbosa, 352, Bairro Eliseu Leal CEP 45450-000. Gandu Bahia
E-mail: hellenyldo@yahoo.com.br

Antonio de Santana Santos
Doutor em Química pela Universidade Estadual de Campinas
Instituição: Professor da Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC e do Programa de Mestrado Profissional em Química em Rede Nacional - PROFQUI
Endereço: Campus Soane Nazaré de Andrade, Rodovia Jorge Amado, Km 16, Bairro Salobrinho CEP 45662-900. Ilhéus-Bahia. Modulo 10 do pavilhão Jorge Amado.
E-mail: jequie2@yahoo.com.br

RESUMO: Na sociedade atual é praticamente impossível viver sem o uso de tecnologia, havendo uma exigência natural de adequação das mediações de ensino à linguagem de uma sociedade que convive e manipula as mesmas no seu cotidiano. Nesta perspectiva, a presente pesquisa, de caráter qualitativo descritivo, apresenta um estudo do uso de tecnologia no ensino de Química a nível médio, verificando a contribuição da Metodologia Webquest para o ensino aprendizagem de alimentos e sua conservação possibilitando ao professor o desenvolvimento de seu material didático. Para tanto, foi criada, aplicada e analisada uma Webquest intitulada de "Conservação e Reações Químicas em Alimentos". A maior dificuldade esteve na escolha do assunto e formulação do desafio, pois estes precisam despertar o interesse dos estudantes e proporcionar conhecimento. Os alunos foram desafiados a ajudar uma comunidade que vinha sofrendo com a escassez de alimentos. A aplicação se deu em uma turma de 3º ano do curso técnico de nutrição, em equipes os alunos criaram uma história em quadrinhos relatando técnicas de conservação alimentar e alguns problemas de saúde que podem ser evitados. A análise avaliativa ocorreu através de auto-avaliação na qual os estudantes falaram livremente sofre a proposta de ensino adotada, a maioria dos participantes gostou da metodologia utilizada sendo destacado, dentre outros, a autonomia e o estudo por temas como pontos positivos. O uso de tecnologia e de Webquest se demonstraram viáveis e eficazes no ensino aprendizagem de conteúdos de Química, tanto na revisão quanto no desenvolvimento e na avaliação destes, podendo ser um recurso de apoio às aulas possibilitando integração e reflexão dos temas estudados.

PALAVRAS-CHAVE: Tecnologia Educacional; Webquest; Ensino/aprendizagem.

ABSTRACT: In today's society it is practically impossible to live without the use of technology, with a natural requirement for the adequacy of teaching mediations to the language of a society that lives and manipulates them in their daily lives. In this perspective, this research, of descriptive qualitative character, presents a study of the use of technology in the teaching of chemistry at the secondary level, verifying the contribution of the Webquest Methodology for the teaching of food learning and its conservation enabling the teacher to develop his didactic material. To this end, a Webquest entitled "Conservation and Chemical Reactions in Food" was created, applied and analyzed. The greatest difficulty was in choosing the subject and formulating the challenge, as they need to arouse the interest of students and provide knowledge. Students were challenged to help a community that had been suffering from food shortages. The application took place in a 3rd year class of the technical course of nutrition, in teams the students created a comic book reporting food conservation techniques and some health problems that can be avoided. The evaluative analysis occurred through self-assessment in which the students spoke freely suffers the proposed teaching adopted, most of the participants liked the methodology used being highlighted, among others, autonomy and study by themes as positive points. The use of technology and Webquest proved to be viable and effective in teaching learning chemistry contents, both in the review and development and evaluation of these, and can be a resource to support the classes enabling integration and reflection of the themes studied.

KEYWORDS: Educational Technology; WebQuest; Teaching/learning.

1. INTRODUÇÃO

As tecnologias fazem parte do exercício do viver dos seres humanos do século XXI, como relata Alemu (2015), estas têm ocupado os mais diferentes espaços sociais. Havendo uma necessidade natural de viabilizar o encontro dos estudantes com as Tecnologias da Informação e Comunicação (TICs) e cabe a escola, como instituição sociopolítica, possibilitar, conectar e mediar essa interconexão.

Segundo Altoé (2005), a inserção de aparatos audiovisuais no campo da educação tem seu marco nos Estados Unidos quando tinha por objetivo capacitar militares. Enquanto no Brasil, essa introdução tem ocorrido desde a década de 60. Nos últimos anos sua utilização tem aumentado cada vez mais, graças aos novos programas e softwares que tem sido desenvolvido pela indústria da tecnologia. Existindo assim, uma exigência de adequação das mediações de ensino à linguagem de uma sociedade que convive e manipula essas tecnologias no seu cotidiano.

A integração das Tecnologias Digitais de Informação e Comunicação (TDIC) no ensino e aprendizagem pode ser viável se os aparatos tecnológicos correlacionados passem a ser vistos como suportes integrados aos métodos de aprendizagem. Neste sentido Mortimer (2000), Mol (2003) e Maldaner (2003), afirmam que existe uma necessidade de mudança principalmente na abordagem dos conteúdos de Química. De acordo com a LDB, o ensino de Química deve contribuir na educação de forma a ajudar na construção do conhecimento científico do aluno, inserindo-o e não o deixando a parte. Os PCNEM propõem a explicitação da multidimensionalidade e do dinamismo dos seus conteúdos. Assim, várias modificações no currículo dos livros didáticos e nas diretrizes metodológicas foram e estão sendo conduzidas, a fim de romper com o tradicionalismo que fortemente ainda se impõe (BRASIL, 1999).

Desta maneira, romper com as formas tradicionais e abstratas de conceber o ensino nas escolas e em particular o estudo da Química, bem como, a abordagem metodológica trabalhada em sala de aula, é uma idéia que se tem construído continuamente. Assim, a qualidade do ensino não depende apenas do uso de novas tecnologias. Contudo, se estas estiverem presentes e for adequadamente inserida em práticas pedagógicas, a melhoria do ensino pode surgir como consequência, efetivando-se o direito humano ao ensino de qualidade.

São inúmeras as possibilidades de aplicabilidades educacionais das TICs e da internet conforme relata Moran (1997), vai desde a divulgação perpassando pela pesquisa, apoio ao ensino e comunicação. As redes atraem os estudantes, pois estes gostam de navegar, descobrir, divulgar e comunicar-se. Porém, podem perder-se entre tantas conexões possíveis, tendo dificuldade em escolher o que é significativo, em fazer relações, em questionar afirmações problemáticas.

Diante disto, uma questão que tem ecoado há algum tempo nos espaços de produção do conhecimento pedagógico é, qual o procedimento metodológico utilizado para implementar as novas tecnologias no processo ensino/aprendizagem? Para McLuhan (1960) apud Heide & Stilborne (2000, p.21).

> ... as novas tecnologias são sempre utilizadas para fazer um trabalho velho, isto é, até que alguma força direcionadora faça com que elas sejam utilizadas de novas maneiras. Pode-se argumentar que, até agora, essa foi nossa experiência com os computadores na educação. Hoje, há computadores nas escolas, mas até agora eles não mudaram significativamente a natureza do ensino ou da aprendizagem.

Logo, é preciso haver a fomentação, em sala de aula, de métodos que viabilize de maneira significativa o aproveitamento do potencial do computador e da internet no desenvolvimento e construção do ensino e da aprendizagem. Pois, o uso constante e eficaz das TIDC no meio educacional ainda é restrito suscitando questionamentos: Como possibilitar a aquisição de competências e habilidades desejadas em nossos estudantes? Como trabalhar em sala ou fora dela os recursos disponibilizados pela web no intuito de transformá-los em conhecimento? Como acessar e organizar informações úteis e confiáveis disponíveis na internet?

Estas e outras questões podem ser respondidas pelo uso da Metodologia Webquest (MWQ) que tem em sua essência a pesquisa na internet como princípio fundamental. O uso deste recurso, como dispositivo pedagógico requer do professor a mediação no desenvolvimento e construção do conhecimento conforme relata Moran (2009), o docente é muito importante como “um articulador de aprendizagens ativas, um conselheiro de pessoas diferentes, um avaliador dos resultados”. Logo, é através da pesquisa mediada que a aprendizagem pode ser entendida como algo criativo.

Nesta perspectiva, a Webquest (WQ) é uma ferramenta que pode possibilitar a aprendizagem interativa e cooperativa. Segundo Seabra (2001), “a grande vantagem da Webquest é dar outro enfoque à questão da pesquisa na internet". Ou seja, será um trabalho orientado onde os estudantes ao acessarem a rede, buscam por temas previamente definidos, com tarefas específicas.

Moran (2007) considera que o trabalho com Webquest é uma das formas mais interessantes de desenvolver pesquisa em grupo. Para ele “é um processo de aprendizagem atraente, porque envolve pesquisa, leitura, interação, colaboração e criação de um novo produto a partir do material e ideias obtidas”.

Os instrumentos tecnológicos e em particular a Webquest possibilitam a apropriação de conteúdos teóricos aliados a prática favorecendo a aprendizagem significativa colaborativa. Neste sentido, a presente pesquisa teve o objetivo de verificar a contribuição da Metodologia Webquest para o ensino aprendizagem de conteúdos relacionados à Química, no Ensino Médio permitindo ao professor o desenvolvimento de seu material didático.

ASPECTOS METODOLÓGICOS

A realização deste trabalho buscou investigar materiais e referenciais teóricos sobre o uso da tecnologia e em particular da Wequest como instrumento de apoio pedagógico no desenvolvimento de conteúdos de Química. Para isso, foi criada, aplicada e analisada uma Webquest.

O estudo fundamentou-se na abordagem metodológica qualitativa descritiva com ênfase na pesquisa bibliográfica (GERHARDT E SILVEIRA, 2009; MORESI, 2003; GIL, 2010) para verificar e analisar a utilização de ferramentas computacionais no ensino de Química, buscando relatos de experiências que pudesse nortear a fundamentação teórica e posterior criação da Webquest. Lançou-se, também, mão de dados quantitativos para análise da metodologia adotada, onde foi considerado conforme Triviños (1987), tanto as dimensões: quantitativas, referente ao tratamento dos dados estatísticos, como as dimensões qualitativas, responsáveis pela qualidade interpretativa das informações.

A pesquisa foi realizada em uma escola pública na cidade de Gandu na Bahia. O desenvolvimento dos estudos ocorreu em uma turma de 3º ano do ensino médio

do Centro Territorial de Educação Profissional do Baixo Sul. A turma selecionada tinha 20 alunos na faixa etária de 16 a 18 anos.

A coleta de dados, para elaboração da Webquest, foi feita através de uma vasta pesquisa em sistema de busca fazendo uso dos *sites* do *Google* acadêmico (https://scholar.google.com.br/),portal da capes (http://www.periodicos.capes.gov.br/), Google (www.google.com.br) e inúmeras leituras de livros, artigos, dissertações, dentre outras referentes à tecnologia e a Webquest. A análise do material coletado foi feita, conforme descreve Gil (2010), leitura exploratória, seletiva, analítica e interpretativa.

Após embasamento teórico, deu-se início a criação da Webquest, a qual foi intitulada de: "Conservação e Reações Químicas em Alimentos". A mesma é composta por etapas:

INTRODUÇÃO – onde é apresentado o assunto de que se trata na Webquest (alimentos);

DESAFIO – local em que se expressa à situação problema que os estudantes terão que resolver;

PROCESSO/RECURSOS – ponto em que está detalhado o que cada componente da equipe pode fazer com fornecimento de referências;

FONTES DE INFORMAÇÕES – etapa que se forneceu várias fontes de pesquisa para os estudantes apropriarem-se e ampliarem seus conhecimentos sobre o tema em estudo.

AVALIAÇÃO – momento em que se discriminou como os estudos seriam avaliados;

CONCLUSÃO – apresentou-se um resumo do conteúdo abordado na Webquest e a perspectiva de aprendizagem;

CRÉDITOS – local onde se colocou as fontes usadas na elaboração da Webquest.

A aplicação da Webquest foi feita em uma turma de 3º ano do ensino médio técnico integral do curso de nutrição e dietética. A turma foi subdividida em grupos de cinco estudantes. O trabalho foi desenvolvido em etapas e os estudos feitos coletivamente. Cada encontro (etapa) durou duas horas aulas de 50 minutos.

1º ENCONTRO – Organizou as equipes, explicou o que é Webquest, falou-se de maneira geral sobre transformações químicas em alimentos e foi solicitada uma pesquisa sobre alimentação de qualidade e sem desperdício.

2º ENCONTRO – Discutiu-se a pesquisa solicitada no 1º encontro, usando questionamentos para problematizar o assunto: O que são alimentos? Qual a origem dos alimentos? Que papel eles desempenham no organismo? Em que a Química influência na obtenção dos alimentos? Fez-se estudo do texto "Nutrientes, suas Funções e seu Conteúdo Calórico".

3º ENCONTRO – Baseado na discussão da pesquisa e análise textual do 2º encontro, foi feita pelas equipes a sistematização conceitual do conteúdo através de mapa conceitual.

4º ENCONTRO – As equipes foram conduzidas à sala de informática para as pesquisas prévias e execução do desafio proposto na Webquest. Neste momento foi fornecido o *site* no qual a Webquest, previamente elaborada, está alojada e verificou se todos os estudantes apresentavam habilidade para trabalhar com o computador.

5º ENCONTRO – As equipes elaboraram uma história em quadrinhos (HQ) com a solução do desafio proposto na Webquest e organizaram as apresentações.

6º ENCONTRO – Momento em que os estudantes fizeram a socialização dos estudos desenvolvidos através da apresentação da história em quadrinhos.

Para análise avaliativa dos estudos desenvolvidos através da Metodologia Webquest, foi solicitado de cada grupo participante uma auto-avaliação onde eles descreveram livremente se gostaram ou não de realizar as atividades, quais os pontos positivos e negativos, a estratégia favoreceu o entendimento dos assuntos estudados. O tratamento das respostas foi feito de maneira qualitativa/descritiva com uso de dados quantitativos e representado graficamente.

DESCRIÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS

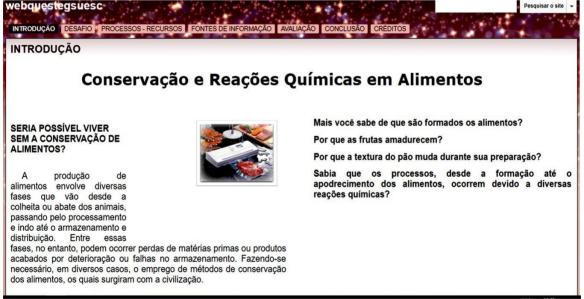
A elaboração da Webquest seguiu algumas etapas: escolha do conteúdo; escrita em editor de texto Word; criação do site onde a Webquest está alojada; visualização e personalização da página; colocação da página em *online*; acesso a página.

Apesar do professor investigador nunca ter trabalhado com Webquest a construção desta não foi um problema, devido à experiência do mesmo na utilização do computador como ferramenta de trabalho e o uso da internet como fonte de informação.

A escolha do conteúdo se deu em função da turma onde o trabalho foi realizado pertencer ao curso técnico de Nutrição e Dietética. Como os estudantes cursam o terceiro ano, já estudaram os assuntos básicos de Química referente ao ensino médio, os quais são vistos no primeiro e segundo ano, favorecendo a aplicação da Webquest “Conservação e Reações Químicas em Alimentos”.

ANÁLISE DA CONSTRUÇÃO DA WEBQUEST

Para construção da Webquest foram feitas várias pesquisas na internet para composição de cada etapa e também para escolha dos *sites* que de fato fomentassem a aquisição de conhecimentos relevantes sobre a temática proposta. Logo após, elaborou-se a introdução, figura 1, a qual orienta e introduz o aluno para o desafio, por isso, começou-se com um questionamento levando os estudantes a uma reflexão, buscando ao mesmo tempo despertar a curiosidade do aprendiz para novas descobertas, de forma que ele se sinta motivado a prosseguir nas atividades.

Figura 1 – Página introdutória da Webquest “Conservação e Reações Químicas em Alimentos”.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Na sequência foi feito o desafio, momento em que os alunos são colocados como sujeitos protagonistas no desenvolvimento e aquisição do conhecimento, esta é a parte primordial da Webquest. Etapa que direciona o estudante para resolução do problema fornecendo um foco de maneira a permitir a efetivação dos objetivos.

Os estudantes foram desafiados a criarem uma história em quadrinhos (HQ) com técnicas de conservação de alimentos, relatando possíveis reações que ocorrem nesses processos e doenças que podem ser evitadas de maneira a ajudar uma comunidade que vem sofrendo com a escassez de alimentos figura 2.

Figura 2 - Desafio proposto na Webquest.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Na etapa seguinte (processos/recursos) foi dado um direcionamento para que os estudantes melhores se organizassem na distribuição de tarefas para construção da história em quadrinhos. Demonstrou-se passo a passo o que os alunos podem fazer para realizar o desfio. Nas fontes de informação foram fornecidos vários *links* sobre transformações que ocorrem em alimentos, técnicas de conservação e possíveis doenças que podem ser ocasionadas para que os estudantes se apropriassem dos conhecimentos para elaboração da história em quadrinhos.

Enquanto na avaliação foi informado como os alunos seriam avaliados e quanto valia cada etapa da atividade. Buscou-se descrever os procedimentos usados para avaliar o desempenho e envolvimento dos estudantes em todo o processo. Fez-se uso de critérios avaliativos, conforme Dogde (1997), a Metodologia Webquest tem que ser avaliada de maneira construtivista, não deve avaliar somente o produto.

Logo, procurou-se padronizar as observações qualitativas, padronizando o processo avaliativo e diminuindo as subjetividades.

Para tanto avaliou-se:

PRODUTO ESCRITO (HQ) - Gramática e correção ortográfica; Organização; Formatação.

COLABORAÇÃO (Trabalho em Grupo) - Cooperação; Ter responsabilidade; Resolver conflito; Partilha de informação; Divisão de tarefas.

APRESENTAÇÃO ORAL - Colocação da voz; Linguagem corporal; Gramática e pronúncia; Organização.

A conclusão, momento de finalização do trabalho fez-se um resumo do que foi abordado na Webquest, buscando incentivar os estudantes a proseguirem pesquisando sobre a temática estudada.

Apesar de a pesquisa ter sido realizada com um grupo que já tinha conhecimentos prévios sobre conservação dos alimentos e as transformações dos materiais, antes da aplicação da Webquest proposta, foram feitos três encontros de duas horas aulas com estudos referentes ao tema. A figura 3 traz o mapa conceitual com a sistematização do tema estudado pelos estudantes.

Figura 3 - Sistematização conceitual da temática abordada em sala.

Veículos de nutrientes sólidos e líquidos
São
Manutenção e crescimento dos tecidos
Construtores, Funcionais, Energéticos, Reguladores
Classificam
ALIMENTOS
Servem para
Fornecer calor e energia
Regular processos corporais
Origem
Fornecem Nutrientes
Animal, Vegetal, Mineral
Podem ser
Carboidratos, Proteínas, Lipídeos, Sais Minerais, Vitaminas
In natura
Industrializado
Obtidos
Passam por
Os quais
Plantas ou Animais
Processos químicos ou físicos
Propiciam o fortalecimento imunológico

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Mapas conceituais são esquemas que buscam relacionar e hierarquizar conceitos. É fundamental que ele seja um instrumento capaz de evidenciar significados atribuídos a conceitos e relações entre estes no contexto de um corpo de conhecimentos, de uma disciplina ou de uma matéria de ensino. Assim, os mapas construídos pelas equipes e sistematizados na figura 2 revelam que os discentes definiram a temática em estudo – alimentos – de maneira ampla, ao citar que são "veículos" de nutrientes sólidos e líquidos relacionando suas principais serventias para o organismo e classificação, além de informar suas origens e quais nutrientes podem fornecer.

O mapeamento conceitual aqui foi usado como técnica didática, recurso de aprendizagem e meio de avaliação, para dar uma visão geral do tema em estudo, ancorado nos conhecimentos prévios dos estudantes. Conforme relata Moreira e Buchweitz (1993) é preferível usar mapeamento conceitual quando os alunos já têm

familiaridade com o assunto, de modo que sejam potencialmente significativos e permitam a integração, reconciliação e diferenciação de significados de conceitos.

DESAFIO PROPOSTO

Foi proposta a criação de uma História em Quadrinhos (HQ) pelos estudantes, pois estas despertam a atenção do leitor no que tange o aspecto lúdico, linguístico e estrutural em que as informações são apresentadas. Segundo Rebolho, Casarotto e João (2009), a utilização de HQ em sala de aula é considerada pela literatura como uma estratégia pedagógica motivadora, que se encontra inserida nos currículos acadêmicos de algumas instituições de ensino pelo mundo. De acordo com Santos et. al. (2008), este gênero textual passou a ser recomendado pela LDB e pelos parâmetros curriculares nacionais (PCNs) desde os anos 90, sendo uma ferramenta de linguagem entre imagens e as palavras.

Dutra (2012), afirma que a elaboração de HQ pode contribuir para o desenvolvimento das capacidades de planejamento, análise, interpretação, reflexão e das habilidades de coerência, coesão, objetividade, uso de diferentes linguagens e criatividade.

Assim, este gênero textual pode ser trabalhado de maneira a explorar seu potencial de contextualização, multidisciplinar e linguístico envolvendo o ato de ler, bem como compreender e interpretar aquilo que se lê.

ANÁLISE DA APLICAÇÃO DA WEBQUEST

Na sala de informática, realizou-se o acesso ao site **https://sites.google.com/site/webquestegsuesc/home** no qual está alojada a Webquest “Conservação e Reações Químicas em Alimentos”. Observou-se que os estudantes envolvidos na pesquisa não apresentaram dificuldades quanto ao manuseio do computador. Porém, teve o obstáculo da queda de internet durante a realização dos estudos, fato que obrigou a conclusão deste extraclasse.

Como a Webquest pode ser trabalhada *offline* ou ser acessada de qualquer lugar e a qualquer momento desde que se tenha acesso a *web*, a interrupção da internet se tornou mais um transtorno do que um problema. Notou-se ainda, que durante a pesquisa, na sala de informática, houve pouca dispersão por parte dos estudantes em relação ao objetivo proposto, provavelmente isso ocorreu devido ao fato

do curso (nutrição) que os alunos estavam inseridos ter relação direta com a temática o que desperta maior interesse além, dos *links* sugeridos direcionarem diretamente ao conteúdo em estudo o que otimiza o tempo de pesquisa e evita o desvio de pensamento.

Quanto à elaboração da história em quadrinhos (HQ), o foco principal estava no conteúdo que seria abordado e não necessariamente nas ilustrações. Diante disso, percebeu-se que as HQs produzidas pelos estudantes atenderam satisfatoriamente ao desafio proposto, porém não houve muito aprofundamento no assunto em estudo como é ilustrado na figura 4.

Figura 4 (parte 1) - História em quadrinhos sobre conservação de alimentos produzida pelos estudantes.

Fonte: Os Autores

No 1º diálogo, é possível verificar que os estudantes definem conservação de alimentos satisfatoriamente bem ao relacioná-la com o "conjunto" de vários métodos utilizados para evitar o apodrecimento dos alimentos. Uma vez que, não é possível aplicar um mesmo procedimento para todos os alimentos, sendo preciso selecionar a técnica mais adequada e eficaz de acordo aos objetivos pretendidos para o alimento. Porém, essa definição é um tanto quanto restrita, pois faz referência, apenas, ao processo de deterioração alimentar e os métodos de conservação, de

maneira geral, ajudam a preservar a qualidade do produto final mantendo cheiro, cor, textura, sabor e o valor nutritivo.

Além disso, suscita-se a questão histórica da conservação no 2º dialogo, ao colocar a geladeira como um equipamento novo e ao mesmo tempo incentiva a reflexão: “como era antigamente”, sendo citada no 3º dialogo, duas das primeiras técnicas utilizadas pelo ser humano para prolongar a vida útil dos alimentos — o uso do sal e a defumação — as quais são bastante comuns ainda hoje.

Figura 4 (parte 2) - História em quadrinhos sobre conservação de alimentos produzida pelos estudantes.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Enquanto no 4º diálogo, fala-se de doença ocasionada por bactérias, as quais se proliferam rapidamente na ausência de conservação ou devido ao mau acondicionamento alimentar. Elas são as principais responsáveis pelos problemas de saúde relacionados à infecção por alimentos. É suscitado, também, o tipo de produto mais propenso a contaminação por bactérias, neste caso os de origem animal.

Nessa história em quadrinhos, observa-se que os estudantes trouxeram informações básicas sobre a conservação dos alimentos. Porém, não citaram os

diversos fatores que podem ocasionar a deterioração alimentar, tais como — parasitas, substâncias tóxicas, micróbios — nem comentaram que os alimentos não se deterioram com a mesma facilidade, existindo categorias de acordo ao tempo de durabilidade para o consumo seguro dos mesmos, as quais são — não perecíveis, pouco perecíveis e os perecíveis. Não trouxeram, também, as técnicas mais modernas de conservação como o uso de aditivos e a irradiação. Não fizeram nenhuma referência às possíveis reações químicas que ocorrem no processo de apodrecimento dos alimentos.

ANÁLISE AVALIATIVA DA METODOLOGIA WEBQUEST

De maneira geral, a maioria dos discentes participantes da pesquisa, relatou que gostou da maneira como o estudo foi desenvolvido como mostra a figura 5.

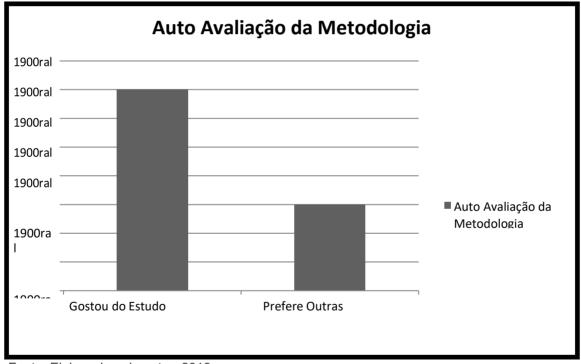



Figura 5 - Quantitativo de alunos que gostaram de estudar através de Webquest.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Pela análise gráfica, é possível inferir que 70 % dos estudantes, envolvidos na pesquisa, aprovaram o método utilizado e nenhum aluno relatou que não gostou do estudo desenvolvido através de Webquest. Isto sinaliza que os alunos do século XXI, em sua maioria, tendem a prestigiar novas formas de ensino desatrelando-se das

meras reproduções de modelos prontos. Porém, 30 % dos discentes citaram que as atividades poderiam ter sido feitas usando outras estratégias, mas não falaram quais.

Esses dados reforçam a ideia de que a tecnologia, inserida no meio educacional como auxiliar e complementar ao processo de ensino aprendizagem pode possibilitar meios atrativos e motivadores, fazendo com que os aprendizes desenvolvam seu aprendizado na busca e construção de conhecimentos.

Os alunos envolvidos no trabalho destacaram como pontos positivos da Metodologia Webquest, dentre outros:

- A autonomia de pesquisa proporcionada por esta, o que permite aos estudantes realizarem as atividades no seu ritmo e de acordo à necessidade para solucionar cada tarefa, baseando-se no direcionamento prévio fornecido pelo professor o que é bom para evitar dispersão, porém sem retirar a independência na realização das atividades e a atuação como agente protagonista dos discentes;
- O estudo através de temas, o qual possibilita a ampliação de conhecimento e posterior aprofundamento destes de maneira interligada a outras disciplinas e relacionada a várias áreas do saber, favorecendo a interdisciplinaridade e proporcionando, também, a transversalidade;
- A construção da história em quadrinhos (HQ), por ser um tipo de gênero textual pouco usado em sala de aula e de fácil leitura e entendimento possibilitando a síntese de conteúdos de maneira clara e objetiva.

E como ponto negativo foi citado a não escolha da temática estudada pelos próprios estudantes, algo que pode ser solucionado pelo professor sugerindo que os alunos elenquem temas e faça a escolha, coletivamente, de qual ou quais serão estudados.

Alguns alunos relataram que preferem os estudos através da metodologia tradicional com posterior realização de provas. Isso revela que existem estudantes que, provavelmente, não estão preparados ou adaptados para trabalharem com metodologias ativas, não se colocando como sujeito protagonista no processo ensino aprendizagem, estando ainda, atrelado ao ensino tradicional atuando como mero receptor de conhecimento.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo descreveu a construção, aplicação e análise de uma Webquest para o ensino de conteúdos de Química no ensino médio. Esta surgiu como uma opção de uso viável e eficaz da tecnologia no meio educacional e, em particular, no ensino da Química, possibilitando a substituição de modelos estáticos pelos dinâmicos, oportunizando aos alunos condições de desenvolver a compreensão conceitual dos estudos, sem que haja apenas o uso mecânico dos conceitos. Logo, o ensino com Webquest pode trazer para o estudo da Química um grande benefício.

Quanto à elaboração da WQ este foi um processo relativamente simples, não sendo constatadas dificuldades nessa etapa, pois não necessita de programas computacionais específico ou complexo, basta dispor de editor de texto Word ou similar, tempo e acesso a internet.

No que tange a aplicação da Metodologia Webquest esta foi facilitada com a pesquisa proposta inicialmente, realização de aula dialogada e construção de mapa conceitual uma vez que, revisou conteúdos e deu melhor fundamentação teórica aos estudantes. A facilidade de navegação na *web* apresentada pelos alunos colaborou positivamente na execução desta etapa. A análise avaliativa da metodologia proposta foi positiva, a maioria dos discentes envolvidos gostou do trabalho executado, sendo apontados vários pontos positivos como a autonomia, estudo por tema e construção de HQ. Somente a não escolha pelos estudantes do tema em estudo como fraqueza.

Desta maneira, é possível inferir que o uso das tecnologias digitais de informação e comunicação e em particular de Webquest pode auxiliar no processo de ensino-aprendizagem, tanto na revisão dos conteúdos quanto no desenvolvimento e na avaliação dos mesmos por parte dos professores, podendo ser um recurso de apoio às aulas, colaborando para o melhor entendimento dos assuntos estudados pelos alunos, maior integração e reflexão dos temas abordados.

REFERÊNCIAS

ALEMU, B. M. **Integrating ICT into Teaching-learning Practices: Promise, Challenges and Future Directions of Higher Educational Institutes**. Disponível em: <https://files.eric.ed.gov/fulltext/EJ1056082.pdf> Acesso em: 03 de ago. 2019.

ALTOÉ, A.; SILVA, H. da. O Desenvolvimento Histórico das Novas Tecnologias e seu Emprego na Educação. In: ALTOÉ, A.; COSTA, M. L. F.; TERUYA, T. K. **Educação e Novas Tecnologias**. Maringá: Eduem, p 13-25, 2005.

BRASIL. **Parâmetros Curriculares Nacionais do Ensino Médio**. Brasília: MEC/SESu, 1999.

BRASIL. **Parâmetros Curriculares Nacionais do Ensino Médio**. Brasília: MEC/SESu, 2002.

DODGE, B. **Some Thoughts About WebQuests**. San Diego: 1995. Disponível em: <http://webquest.sdsu.edu/about_webquests.html> Acesso em: 10 de ago. 2019.

DODGE, B. **Building Blocks of a WebQuest**. EdTech: 1997. Disponível em: <http://projects.edtech.sandi.net/staffdev/buildingblocks/p-index.htm> Acesso em: 15 jul. 2019.

DUTRA E. S. Histórias em quadrinhos: recursos e linguagens dinamizadores do processo ensino e aprendizagem. In: **XVI Encontro Nacional de Didática e Práticas de Ensino**; 2012 jul. 23-26; São Paulo, Brasil [Internet]. Campinas: ENDIPE; 2012 [citado 2014 out. 31]. Disponível em: <http://www.infoteca.inf.br/endipe/smarty/templates/arquivos_template/upload_quivos/acervo/docs/3190p.pdf> Acesso em: 19 de jul. 2019.

GERHARDT, T. E.; SILVEIRA, D. T. (Org.). **Métodos de pesquisa**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2009. Disponível em: <http://www.ufrgs.br cursopgdr downloadsSerie derad005.pdf .> Acesso em: 20 out. 2019.

GIL, A. C. **Como Elaborar Projetos de Pesquisa**. 5. ed. São Paulo: Atlas, p. 184, 2010.

HEIDE, A.; STILBORNE, L. **Guia do professor para a Internet**: completo e fácil. 2. ed., Porto Alegre: Artes Médicas, 2000.

MALDANER, O. A. **A Formação Inicial e Continuada de Professores de Química**: Professores Pesquisadores. 2ª ed. Ijuí, UNIJUÍ, 2003.

MÓL, G. de S. e SANTOS, W. L. P. dos (Coords.) **Química e sociedade -** Química: coleção Nova Geração. São Paulo: Editora Nova Geração, 2003. Módulos 1, 2 e 3.

MORAN, J. M. Como utilizar a Internet na educação. **Ciência da Informação**. V. 26 nº 2 Brasília mai/ago. 1997.

MORAN, J. M. **A educação que desejamos: novos desafios e como chegar lá**. 2. ed. Campinas, SP: Papirus, p. 174, 2007.

MORAN, J. M. Caminhos para a aprendizagem inovadora. In: MORAN, José Manuel. **Novas tecnologias e mediação pedagógica**. 15. ed. Campinas: Papirus, p. 22-24, 2009.

MOREIRA, M. A.; BUCHWEITZ, B. **Novas Estratégias de Ensino e Aprendizagem: os mapas conceituais e o Vê epistemológico**. Lisboa: Plátano Edições Técnicas, 1993.

MORESI, E. **Metodologia da pesquisa**. Brasília – DF, 2003. Disponível em: <http://www.unisc.br/portal/upload/com.../metodologia_da_pesquisa...> Acesso em: 21 out. 2019.

MORTIMER, E. F.; MACHADO, Andréa Horta; ROMANELLI, Lilavate Izapovitz. A proposta curricular de Química do Estado de Minas Gerais: fundamentos e pressupostos. **Química Nova** vol.23 n.2 São Paulo Mar/Abr. 2000. Disponível em: < http://www.scielo.br/pdf/qn/v23n2/2131.pdf > Acesso em: 03 de out. 2019.

REBOLHO, M. C. T.; CASAROTTO, R. A.; JOÃO, S. M. A. **Estratégias para ensino de hábitos posturais em crianças: história em quadrinhos versus experiência prática**. Fisioter Pesq. 16(1): 46-51, 2009.

SANTOS, A. F. et al. **Proposta de uma Aprendizagem Divertida Através da Construção de Histórias em Quadrinhos**. Instituto Luterano de Ensino Superior – ULBRA. XIV Encontro Nacional de Ensino de Química, 2008.

SEABRA, C. Novo método orienta pesquisa na internet. 2001. **Revista EducaRede**. Disponível em: <http://.www.educarede.org/br/educa/imgconteudo/tecnologia4.html> Acesso em: 15 de jul. 2019.

TRIVINÕS, A. N. S. **Introdução a pesquisa em Ciência Sociais: a Pesquisa qualitativa em educação**. São Paulo: altos, 1987.

CAPÍTULO 08

FUNCTIONAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF A CHICKEN BLOOD MEAL HYDROLYSATE.

Fillemon Edillyn da Silva Bambirra Alves
Mestre em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal do Paraná
Instituição: Universidade Federal do Paraná
Endereço: Av. Cel. Francisco Heráclito dos Santos n.º 100, Campus III – Centro Politécnico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Jardim das Américas, Curitiba – PR, Brasil
E-mail: fesbalves@gmail.com

Gerson Lopes Teixeira
Doutor em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal do Paraná
Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina
Endereço: Rod. Admar Gonzaga n.º 1346, Campus Florianópolis, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Itacorubi, Florianópolis – SC, Brasil
E-mail: gerson775@gmail.com

Suelen Ávila
Doutora em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal do Paraná
Instituição: Universidade Federal do Paraná
Endereço: Av. Prefeito Lothário Meissner n.º 632, Campus III – Jardim Botânico, Programa de Pós- Graduação em Alimentação e Nutrição, Jardim Botânico, Curitiba – PR, Brasil
E-mail: suelenavila@gmail.com

Rosemary Hoffmann Ribani
Doutora em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas
Instituição: Universidade Federal do Paraná
Endereço: Av. Cel. Francisco Heráclito dos Santos n.º 100, Campus III – Centro Politécnico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Jardim das Américas, Curitiba – PR, Brasil
E-mail: roseribani@gmail.com

Agnes de Paula Scheer
Doutora em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Campinas
Instituição: Universidade Federal do Paraná
Endereço: Av. Cel. Francisco Heráclito dos Santos n.º 100, Campus III – Centro Politécnico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Jardim das Américas, Curitiba – PR, Brasil
E-mail: agnesps@gmail.com

ABSTRACT: Chicken blood is a slaughterhouse by-product rich in protein commonly transformed into blood meal. In this study, the potential of chicken blood meal as a source of protein hydrolysates with interesting properties for the industry was investigated. The hydrolysis performed at 60 °C, pH 8.0 and 5 % enzyme-to-substrate ratio with Alcalase® 2.4L for 90 minutes resulted in a DH of 19.3 % by the pH-stat method and 22.7 % by the OPA assay. A 1:3 (v/v) O/W emulsion prepared with 1 % hydrolysate solution had an emulsifying activity index of 74.4 m²/g and an emulsifying

stability index of 413.2 min. Microphotographs taken at days 0 and 7 showed that the number of droplets in the emulsion seems to decrease over time due to coalescence. After whipped, the 1 % hydrolysate solution had 32 % foam capacity and 6% foam stability after one-hour rest. The hydrolysate was found to be an electron donor and metal reducer according to the FRAP assay (6.8 µmol TE/g), but displayed no radical scavenging activity according to the ABTS and DPPH assays. The results suggest that chicken blood meal hydrolysate may be a potential ingredient in the food, pharmaceutical and cosmetic industries.

KEYWORDS: animal protein; hydrolysis; emulsion; foaming; antioxidant.

RESUMO: O sangue de frango é um subproduto de abatedouro rico em proteínas comumente transformado em farinhas de sangue. Neste estudo, investigou-se o potencial dda farinha de sangue de frango como fonte de hidrolisados proteicos com propriedades interessantes para a indústria. A hidrólise realizada a 60 °C, pH 8,0 e 5 % de relação enzima-substrato com Alcalase® 2.4L por 90 minutos resultou em um grau de hidrólise de 19,3 % pelo método pH-stat e 22,7 % pelo teste do OPA. Uma emulsão O/A 1:3 (v/v) preparada com solução de hidrolisado a 1 % exibiu um índice de atividade emulsificante de 74,4 m²/g e um índice de estabilidade emulsificante de 413,2 min. As micrografias adquiridas nos dias 0 e 7 mostraram que o número de gotas na emulsão parece diminuir ao longo do tempo devido à coalescência. Depois de agitada, a solução de hidrolisado a 1 % tinha 32 % de capacidade de espuma e 6 % de estabilidade de espuma após uma hora de repouso. Verificou-se que o hidrolisado é um doador de elétrons e redutor de metal de acordo com o ensaio FRAP (6,8 µmol TE/g), mas não apresentou atividade de sequestro de radicais livres de acordo com os ensaios ABTS e DPPH. Os resultados sugerem que o hidrolisado de farinha de sangue de frango pode ser um ingrediente potencial nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética.

PALAVRAS-CHAVE: proteína animal; hidrólise; emulsão; espuma; antioxidante.

1. INTRODUCTION

Paraná is the biggest broiler meat producer in Brazil, registering a third of the national production with 4,110 metric tons in 2016 (ABPA, 2017). In the world scenario, Brazil is the 2nd chicken meat producer in the globe, only behind the United States (USDA, 2018). The demand for meat in general is rising, followed by an increase in the rate of wastewater produced by slaughterhouses and the water consumption (Bustillo-Lecompte&Mehrvar, 2015). There is a growing interest in ways of revalorization of by-products from meat industry (Valta *et al.*, 2015; Ravindran & Jaiswal, 2016). Animal blood is a big concern, but a rich source of protein, which is why it is used as animal feed after being turned into meal (Matias *et al.*, 2012).

Protein hydrolysates have been studied recently because of their higher aggregate value as a product and for their many interesting applications in the food industry and for the pharmaceutical and cosmetic industry as well (Cian *et al.*, 2012). The protein sources vary, and many include by- products of different sectors of the food industry, such as slaughterhouse blood (Bah *et al.*, 2013). As the sources may vary, so does their potential for the industry; researchers have been studying hydrolysates with interesting functional properties, such as the capacity to form stable emulsions or good foaming properties, the ability to form biofilms with special properties and for microencapsulation of oils (Panizzolo & Añón, 2015; Morales-Medina *et al.*, 2016; Evangelho *et al.*, 2017; Schröder *et al.*, 2017).

The study of protein hydrolysates have also paved the path for researches in the field of bioactive peptides that, among many applications, may be of interest as antioxidants, opioids, immunomodulatory agents, anti-hypertensives, anti-inflammatories, anti-thrombotic agents (Bhat *et al.*, 2015). Among many sources, slaughterhouse blood is an emerging source of bioactive compounds (Bah *et al.*, 2013) being studied by several researchers (Álvarez *et al.*, 2016; Bah *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017).

In this sense, the present work was developed with the aim to investigate the potential use of chicken blood meal as a source of protein hydrolysates with interesting properties for the industry. The proposed method of obtaining the hydrolysate is an enzymatic reaction followed by centrifugation, concentration and drying. The studied properties were the emulsifying and foaming capacities and stabilities of the hydrolysate, and different methods were used in order to assess the antioxidant activity and the prevailing mechanism of action at inhibiting oxidation processes.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. MATERIALS

Chicken blood meal (CBM) was gently donated by a producer from Rolândia, Paraná, Brazil. The raw material was freeze-dried in a Liotop L101 freeze-dryer (Liotop, Brazil) to remove residual moisture, vacuum sealed in plastic bags and stored under -4 °C. Alcalase® 2.4L, ortophtaldialdehyde (OPA) reagent solution and the standards and reactants used in the antioxidant activity assays (TPTZ, ABTS and DPPH) were purchased from Sigma Aldrich (São Paulo, Brazil). L-leucine was supplied by Ajinomoto (Curitiba, Brazil). All the reagents used in this work were of analytical grade.

2.2. CHEMICAL ANALYSIS OF CHICKEN BLOOD MEAL

The official methods from the Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) (1990) were used to determine crude protein (N × 6.25), ash and moisture content in chicken blood meal and water activity was measured in an AquaLab 3TE water activity meter (METER, USA).

2.3. PREPARATION OF THE HYDROLYSATE

2.3.1. HYDROLYSIS OF CHICKEN BLOOD MEAL

Five grams of freeze-dried CBM were added to 250 mL of distilled water in a 300 mL beaker. The pH was adjusted to 8.0 with 4.0 M NaOH and 1.0 M HCl solutions. Conditions for the hydrolysis were 60 °C, pH 8.0 and a 5% enzyme-to-substrate ratio (E/S). A 1.0 N NaOH solution was used to maintain the pH during the hydrolysis for the evaluation of the degree of hydrolysis (DH) by the pH-stat method. The hydrolysis was initiated by adding Alcalase® 2.4L and interrupted after 90 minutes by enzyme inactivation: neutralization using HCl and heating to boiling temperature for 15 minutes followed by cooling in an ice bath. A sample was taken for the evaluation of the DH by the OPA method. The hydrolysate was centrifuged at 2400 RPM for 15 minutes at room temperature; the supernatant was collected and centrifuged at 4500 RPM for 15 minutes at 4 °C in a Hermle Z383K refrigerated centrifuge (HERMLE Labortechnik GmbH, Germany). The second centrifugation supernatant was concentrated in a rotary evaporator at 120 RPM and 60 °C under reduced pressure. The concentrated hydrolysate was then freeze-dried and stored under -4 °C for further analysis.

2.3.2. EVALUATION OF THE DEGREE OF HYDROLYSIS (DH)

The degree of hydrolysis (DH) is defined as the fraction of peptide bonds during the enzymatic reaction. The pH-stat method consists of conducting the enzymatic reaction while maintaining the pH at a constant value by the addition of base or acid, which allows for monitoring the DH in real-time. According to Adler-Nissen (1977), when the reaction pH is superior to the pK_a of the α-NH groups, the number of peptide bonds cleaved is proportional to base consumption, as Eq. (1) shows:

$$DH(\%) = h/h_{tot} = 100 \times B \times N_b / (\alpha \times M_p \times h_{tot}) \qquad (1)$$

Where h is the number of peptide bonds cleaved, h_{tot} is the number of peptide bonds in the substrate, 7.6 meqv/g for animal protein (Adler-Nissen, 1986), B is the volume of base consumed, N_b is the normality of the base, α is the average degree of dissociation of the α-NH groups calculated using Eq. (2) and M_p is the mass content of protein in the substrate.

$$\alpha = 10^{(pH - pK)} / [1 + 10^{(pH - pK)}] \qquad (2)$$

Due to the complex composition of the substrate, the pK value was estimated using the Steinhardt &Beychok equation (1964) as shown in Eq. (3):

$$pK = 7.8 + 2400 \times (298 - T) / (298 \times T) \qquad (3)$$

Where T is the reaction temperature in Kelvin. With the aforementioned conditions used for the hydrolysis, the pK is 6.95 and α is 0.92.

The DH was also evaluated using the ortophtaldialdehyde (OPA) method described by Church *et al.* (1983) with modifications. 25 µL of the sample of hydrolysate previously diluted to 10 % were added to 2.5 mL of the OPA reagent solution (1 mg/mL OPA and 2-mercaptoethanol as the thiol group) in a 1 cm path length quartz cuvette. The cuvette was gently tapped and the absorbance at 340 nm wavelength was read in na UV-Vis Shimadzu 1800 spectrophotometer (Shimadzu, Japan) at room temperature after 3 min and repeated until its value was stable. The DH is calculated by the ratio between the average number of peptide bonds cleaved

(n) and the average number of total peptide bonds in the substrate (n_{tot}), as shown in Eqs. (4) and (5):

$$DH(\%) = 100 \times n / n_{tot} \quad (4)$$

$$n = A_{340} \times M \times V / (\varepsilon \times d \times M_p) \quad (5)$$

Where A_{340} is the absorbance value at 340 nm wavelength, M is the average molar weight of the protein content in the substrate, V is the reaction volume, ε is the molar absorptivity of the protein, d is the dilution factor and M_p is the mass content of protein in the substrate. The absorbance readings were compared to a standard curve prepared with aliquots ranging from 30 to 450 µL of an 1 mM L-leucine (131.17 g mol^{-1}) solution added to the OPA reagent solution (used as blank in the assays), resulting in $\varepsilon = 6070\ M^{-1}\ cm^{-1}$ ($R^2 = 0.9966$).

2.4. FUNCTIONAL PROPERTIES OF THE HYDROLYSATE

2.4.1 EMULSIFYING PROPERTIES

A 1:3 (v/v) oil-in-water emulsion was prepared by mixing 5 mL of sunflower oil with 15 mL of 1 % (w/v) hydrolysate aqueous solution in a 50 mL beaker using a Polytron PT 3100 D homogenizer (Kinematica, Switzerland) at 15000 RPM for 5 minutes. Two aliquots of 50 µL were taken from the bottom of the beaker and added to 5 mL of 0.1% sodium dodecyl sulfate (SDS) solution; one, immediately and the other one 30 min after emulsion preparation. The emulsifying properties were then determined by turbidimetry as described by Pearce & Kinsella (1978). The first aliquot was used to determine the emulsion activity index (EAI) in m^2/g with Eq. (6):

$$EAI(m^2/g) = 2 \times 2.303 \times A_{500} / (F \times M_p) \quad (6)$$

Where A_{500} is the absorbance at 500 nm wavelength, F is the oil fraction (0.25) and M_p is the mass content of protein in the sample. The aliquot taken 30 minutes after forming the emulsion was used to determinate the emulsion stability index (ESI) expressed in minutes as shown in Eq. (7):

$$ESI(min) = A_{500,f} \times \Delta t / (A_{500,i} - A_{500,f}) \quad (7)$$

Where $A_{500,f}$ is the absorbance at 500 nm for the sample at instant t, $A_{500,i}$ is the absorbance at 500 nm used to calculate the EAI and Δt is the time interval in minutes (30 minutes).

Emulsion microstructure

The microstructure of the emulsion was also evaluated at days 0 and 7 with the aid of an Axio Observer D1 inverted microscope (Carl Zass Micro Imaging GmbH, Germany). Images were acquired using the software Axio Vision v4.8.2 at four different magnifications: 160×, 360×, 640× and 1008× (Teixeira *et al.*, 2016).

2.4.2. FOAMING PROPERTIES

A 1% (w/v) hydrolysate solution was prepared by adding 250 mg of hydrolysate to 25 mL of deionized water. The solution was whipped with the aid of a Polytron PT 3100 D homogenizer at 15000 RPM for 5 minutes and transferred to a graduated cylinder. Foam properties were determined in terms of capacity and stability as suggested by Coffmann& Garcia (1977). The foaming capacity (FC) was determined with Eq. (8) and foam stability (FS) with Eq. (9):

$$FC(\%) = 100 \times (\text{volume after whipping} - \text{initial volume}) / \text{initial volume} \quad (8)$$

$$FS(\%) = 100 \times (\text{volume 1 hour after whipping} - \text{initial volume}) / \text{initial volume} \quad (9)$$

2.5. ANTIOXIDANT PROPERTIES OF THE HYDROLYSATE

The FRAP assay was carried out according to the method described by Benzie & Strain (1996) with modifications (Barbi *et al.*, 2018). Absorbance readings at 593 nm were measured in an Infinite M200 NanoQuant microplate reader (Tecan Trading AG, Switzerland) and the results were expressed as μmol of Trolox equivalents (TE) per g of the sample using a standard curve prepared with Trolox solutions ranging from 0.1 to 0.7 mmol/L concentrations ($R^2 = 0.9903$).

The ABTS•+ radical scavenging capacity of CBMH was determined with the method described by Re *et al.* (1999) with modifications (Barbi*et al.*, 2018). The ABTS•+ cationic radical solution prepared on the previous day was diluted in methanol in order to adjust its absorbance at 734 nm wavelength to 0.700 ± 0.020, tested in a

Spectro 3000W UV-Vis spectrophotometer (MarteCientífica, Brazil). The absorbance readings at 734 nm were compared to a standard curve prepared with Trolox solutions ranging from 0.1 to 1.0 mmol/L concentrations (R^2 = 0.9949). The results were expressed as μmol of Trolox equivalents (TE) per g of the sample.

The DPPH• radical scavenging capacity was quantified with the Brand-Williams, Cuvelier&Berset method (1995) with modifications (Barbi*et al.*, 2018). Absorbance readings at 517 nm were compared to a standard curve was prepared with Trolox solutions ranging from 0.01 to 0.5 mmol/L (R^2 = 0.9903) and the results were expressed as μmol of Trolox equivalents (TE) per g of the sample.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Results for the chemical analysis of chicken blood meal (CBM) are presented in Table 1. CBM is rich in protein, which is the main reason it is used as animal feed. The protein content found also justifies the use of this product as a source of protein hydrolysates.

Table 1 – Chemical composition of chicken blood meal.

Constituent	Mass content (g/100g)
Moisture	1.84 ± 0.07
Crude protein	93.42 ± 2.72
Ash	4.21 ± 0.09

Fonte: Os Autores.

Fig. 1 shows the evolution of hydrolysis of chicken blood meal with Alcalase® 2.4L over the time. After 90 minutes, the pH-stat method showed a degree of hydrolysis (DH) of 19.3 %. The result for the DH obtained with the OPA method was 22.7 % and the concentration was found to be 0.0374 meqv L-leucine/L. The difference between the results indicates an underestimation in the DH by the pH-stat method, which is related to how the pK of the α-amino groups is considered. The enzyme employed is an endopeptidase without specificity, which implies a complex mixture of small peptides and polypeptides obtained from the hydrolysis. Smaller peptides and free amino acids have a significantly higher pK compared to longer ones, resulting in an underestimation of the 1/α term in the pH-stat equation and, consequently, an

underestimated DH. A similar result was also found by Spellman *et al.* (2003) with a stronger difference between the results obtained with the two methods due to the use of an exopeptidase in their work. The OPA method, however, has its constraints as well; OPA has poor reactivity with cysteine and proline, and reacts with the side-chain of lysine, thus this method should be avoided when the substrate is rich on those amino acids (Nielsen *et al.*, 2001; Rutherfurd, 2010).

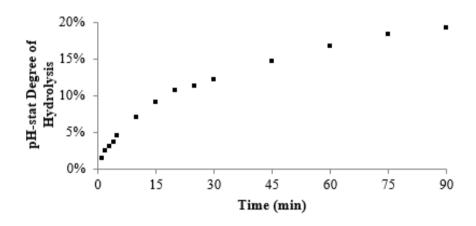



Figure 1 – Degree of hydrolysis during the hydrolysis of chicken blood meal by Alcalase® 2.4L(60 °C, pH 8.0, 5% enzyme-to-substrate ratio).

Concerning the functional properties of the chicken blood meal hydrolysate (CBMH) obtained, an emulsifying activity index (EAI) of 74.4 m^2/g and an emulsifying stability index (ESI) of 413.2 min were found. These results are remarkable because common commercial protein emulsifiers such as egg white protein, soy protein isolate and whey protein isolate display an EAI ranging from 40 to 60 m^2/g and an ESI ranging from 15 to 35 min after 10 minutes resting (Darine *et al.*, 2010). This indicates that CBMH has enhanced emulsifying properties compared to available commercial protein emulsifiers. These results were also higher than those found for common carp roe hydrolysates (Chalamaiah*et al.*, 2015) and sea cucumber viscera (Yan *et al.*, 2016).

The microphotographs of the O/W emulsions taken at 0 and 7 days after the emulsion formation are shown in Fig. 2. They confirm the emulsifying properties of CBMH as shown in the microstructure; numerous droplets of different sizes can be seen at any magnification, which is a consequence of the high EAI. Droplets can still be observed at day 7, confirming that the emulsion formed has some degree of stability, but is already at the final stages of its breakdown process due to the coalescence of the droplets.

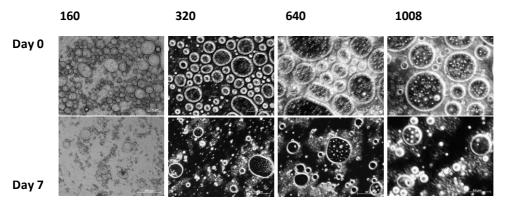



Figure 2 – Microphotographs of the 1:3 (v/v) O/W emulsion prepared with 1% CBMH solution taken at days 0 and 7 at different magnifications. Scale bars: 160× – 200 µm, 320× – 100 µm, 640× – 50 µm and 1008× – 0.5 µm.

Foam results were a FC of 32.0 % and a FS of 6.0 % after one hour. These results are noticeably lower than the ones found for okara protein hydrolysates (Fierens *et al.*, 2016) and banded cricket protein hydrolysates (Hall *et al.*, 2017). It should be noted that the choice of enzyme type, the extent of the hydrolysis and the amino acid profile of the material are crucial for functional properties (Ren *et al.*, 2015).

Regarding the antioxidant activities, CBMH has a ferric ion reducing antioxidant power of 6.8 µmol TE/g. This result indicates that the principle of action of the hydrolysate at inhibiting oxidation processes is by electron donation, binding to metals that could catalyze reactions resulting in free radicals. However, other hydrolysates studied recently displayed a higher FRAP activity, such as chicken egg vitelline membrane hydrolysates (Lee *et al.*, 2018) and tra catfish by-product (Vo *et al.*, 2017). Meanwhile, CBMH showed no radical scavenging ability according to the ABTS and DPPH methods. Nevertheless, the antioxidant power can be enhanced or even released by further hydrolyzing CBM, since extensive hydrolysis yields smaller peptides, usually with higher activities compared to peptides with longer chains (Damodaran, 2008).

4. CONCLUSIONS

The present study provides novel information on the functional and antioxidant properties of a chicken blood meal hydrolysate. CBMH exhibited enhanced emulsifying properties compared to commercial protein emulsifiers commonly used in the food industry. It acted like an electron donor and a metal reducer according to the FRAP

assay, but it had no radical scavenging ability according to the DPPH and ABTS assays. Therefore, CBMH may be a potential ingredient for the food, pharmaceutical and cosmetic industries and this strategical importance should stimulate new research lines to consolidate their use and application.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by National Council for Scientific and Technologic Development (CNPq) under the Grant No. 147884/2016-0 and the Graduate Program in Food Engineering (Federal University of Paraná).The results herein discussed were published in the annals of the CongressoBrasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos (CBCTA) in 2018 and are part of a research project that was further developed since then and the final results are available in a more recent publication (DA SILVA BAMBIRRA ALVES *et al*., 2020).

REFERENCES

ABPA, Associação Brasileira de Proteína Animal. (2017). *RelatórioAnual da ABPA*.

Adler-Nissen, J. (1977) Enzymatic hydrolysis of fish proteins, *Process Biochemistry*, 12(6), 18–23.

Adler-Nissen, J. (1986) *Enzymic Hydrolysis of Food Proteins*. Barking: Elsevier Applied Science Publishers.

Álvarez, C., Tiwari, B. K., Rendueles, M. & Díaz, M. (2016) Use of RSM to describe the effect of time and temperature on the production of decoloured, antioxidant and functional peptides from porcine haemoglobin by sub-critical water hydrolysis. *LWT - Food Science and Technology*, 73, 280–289.

Association of Official Agricultural Chemists. (1990) *AOAC Official Methods of Analysis* (15ª ed.), Washington D.C..: Association of Official Agricultural Chemists – AOAC.

Bah, C. S. F., Bekhit, A. E. D. A., Carne, A. & McConnell, M. A. (2013) Slaughterhouse blood: An emerging source of bioactive compounds, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(3), 314–331.

Bah, C. S. F., Carne, A., McConnell, M. A., Mros, S. &Bekhit, A. E. D. A. (2016) Production of bioactive peptide hydrolysates from deer, sheep, pig and cattle red blood cell fractions using plant and fungal protease preparations. *Food Chemistry*. 202, 458–466.

Barbi, R. C. T., Teixeira, G. L., Hornung, P. S., Ávila, S. & Hoffmann-Ribani, R. (2018) Eriobotrya japonica seed as a new source of starch: Assessment of phenolic compounds, antioxidant activity, thermal, rheological and morphological properties. *Food Hydrocolloids*, 77, 646–658.

Benzie, I. F. F. e Strain, J. J. (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of ‘antioxidant power’: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76.

Bhat, Z. F., Kumar, S. e Bhat, H. F. (2015) Bioactive peptides of animal origin: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 5377–5392.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. e Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.

Bustillo-Lecompte, C. F. e Mehrvar, M. (2015) Slaughterhouse wastewater characteristics, treatment, and management in the meat processing industry: A review on trends and advances. *Journal of Environmental Management*. Elsevier Ltd, 161, 287–302.

Chalamaiah, M., Jyothirmayi, T., Diwan, P. V. e Dinesh Kumar, B. (2015) Antioxidant activity and functional properties of enzymatic protein hydrolysates from common carp (Cyprinus carpio) roe (egg). *Journal of Food Science and Technology*, 52(9). 5817–5825.

Church, F. C., Swaisgood, H. E., Porter, D. H. e Catignani, G. L. (1983) Spectrophotometric Assay Using o-Phthaldialdehyde for Determination of Proteolysis in Milk and Isolated Milk Proteins. *Journal of Dairy Science*, 66(6), 1219–1227.

Cian, R. E., Drago, S. R. e González, R. J. (2012) Influence of pH on colour and iron content of peptide fractions obtained from bovine Hb concentrate hydrolysates. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(7), 1348–1353.

Coffmann, C. W. e Garcia, V. V. (1977) Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour. *International Journal of Food Science & Technology*, 12(5), 473– 484.

Damodaran, S. (2008) Amino Acids, Peptides and Proteins. In Damodaran, S., Parkin, K. L., &Fennema, O. R. (Eds.) *Fennema's Food Chemistry*. (cap. 5; p. 217-330). Boca Raton: CRC Press.

Darine, S., Christophe, V. &Gholamreza, D. (2010) Production and functional properties of beef lung protein concentrates. *Meat Science*. 84(3), 315–322.

Da Silva Bambirra Alves, F. E.; Carpiné, D.; Teixeira, G. L.; Goedert, A. C.; Scheer, A. de P.; Ribani, R. H. (2020) Valorization of An Abundant Slaughterhouse By-product as a Source of Highly Technofunctional and Antioxidant Hydrolysates. *Waste and Biomass Valorization* (online), 1-17.

Evangelho, J. A., Vanier, N. L., Pinto, V. Z., Berrios, J. J. D., Dias, A. R. G. &Zavareze, E. R. (2017) Black bean (Phaseolus vulgaris L.) protein hydrolysates: Physicochemical and functional properties. *Food Chemistry*, 214, 460–467.

Fierens, E., Brijs, K. &Delcour, J. A. (2016) Emulsifying and foaming properties of okara protein hydrolysates. *Cereal Chemistry*, 93(1), 71–76.

Hall, F. G., Jones, O. G., O'Haire, M. E. &Liceaga, A. M. (2017) Functional properties of tropical banded cricket (Gryllodessigillatus) protein hydrolysates. *Food Chemistry*. Elsevier Ltd, 224, 414– 422.

Lee, D., Bamdad, F., Khey, K. &Sunwoo, H. H. (2018) Antioxidant and anti-inflammatory properties of chicken egg vitelline membrane hydrolysates. *Poultry Science*, 96(9), 3510–3516.

Matias, C. F. de Q., Lara, L. J. C., Baião, N. C., Cardoso, D. de M. & Baião, R. C. (2012) Utilização de farinhas de origem animal na avicultura. *Nutritime*, 9(5), 1944–1964.

Morales-Medina, R., Tamm, F., Guadix, A. M., Guadix, E. M. &Drusch, S. (2016) Functional and antioxidant properties of hydrolysates of sardine (S. pilchardus) and horse mackerel (T. mediterraneus) for the microencapsulation of fish oil by spray-drying. *Food Chemistry*. Elsevier Ltd, 194, 1208–1216.

Nielsen, P. M., Petersen, D. &Dambmann, C. (2001) Improved Method for Determining Food Protein Degree of Hydrolysis. *Journal of Food Science*, 66(5), 642–646.

Panizzolo, L. A. &Añón, M. C. (2015) Foaming Properties of Soy Protein Isolate Hydrolysates. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 3(1), 1–9.

Pearce, K. N. & Kinsella, J. E. (1978) Emulsifying Properties of Proteins: Evaluation of A Turbidimetric Technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(3), 716–723.

Ravindran, R. & Jaiswal, A. K. (2016) Exploitation of Food Industry Waste for High-Value Products. *Trends in Biotechnology*. Elsevier Ltd, 34(1), 58–69.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., P., A., Yang, M. & RE., C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biolology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.

Ren, J., Song, C. L., Wang, P., Li, S., K., N. K. & Zheng, X. Q. (2015) Modification of Structural and Functional Props. of Sunflower 11S Globulin Hydrolysates. *Czech Journal of Food Sci.*, 33(5), 474–478.

Rutherfurd, S. M. (2010) Methodology for determining degree of hydrolysis of proteins in Hydrolysates: a review. *Journal of AOAC International*, 93(5), 1515–1522.

Schröder, A., Berton-Carabin, C., Venema, P. &Cornacchia, L. (2017) Interfacial properties of whey protein and wp hydrolysates and their influence on O/W emulsion stability. *Food Hydrocolloids*, 73, 129–140.

Spellman, D., McEvoy, E., O'Cuinn, G. & FitzGerald, R. J. (2003) Proteinase and exopeptidase hydrolysis of whey protein: Comparison of the TNBS, OPA and pH stat methods for quantification of degree of hydrolysis. *International Dairy Journal*, 13(6), 447–453.

Steinhardt, J. &Beychok, S. (1964) Interaction of Proteins with Hydrogen Ions and Other Small Ions and Molecules. In Neurath, H. (Ed.) *The Proteins: Composition, Structure, and Function* (cap.2. p. 139–304) New York: Academic Press.

Teixeira, G. L., Züge, L. C. B., Silveira, J. L. M., Scheer, A. de P. &Ribani, R. H. (2016) The Impact of PolyoxyethyleneSorbitan Surfactants in the Microstructure and Rheological Behaviour of Emulsions Made With Melted Fat From Cupuassu (Theobroma grandiflorum). *Journal of Surfactants and Detergents*, 19(4), 725–738.

USDA, United States Department of Agriculture (2018). *Livestock and Poultry: World Markets and Trade*.

Valta, K., Damala, P., Orli, E., P, C., Moustakas, K., Malamis, D. &Loizidou, M. (2015) Valorisation Opportunities Related to Wastewater and Animal By-Products Exploitation by the Greek Slaughtering Industry: Current Status and Future Potentials. *Waste and Biomass Valorization*, 6(5), 927–945.

Vo, T. D. L., Chung, D. T. M., Doan, K. T., Le, D. T. & Trinh, H. V. (2017) Investigation of antioxidant potential of peptide fractions from the Tra Catfish by-product-derived hydrolysate using Alcalase® 2.4 L FG. *AIP Conference Proceedings*, 1878, 1–8.

Wang, B., Cheng, F., Gao, S., Ge, W. & Zhang, M. (2017) Double enzymatic hydrolysis preparation of heme from goose blood and microenc. to promote its stability and absorption. *Food Chemistry*, 217, 699–704.

Yan, M., Tao, H. e Qin, S. (2016) Effect of Enzyme Type on the Antioxidant Activities and Functional Properties of Enzymatic Hydrolysates from Sea Cucumber (Cucumariafrondosa) Viscera. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 25(6), 940–952.

CAPÍTULO 09

CONTROLE DE QUALIDADE APLICADO A FARINHA DE TRIGO PANIFICÁVEL PRODUZIDA EM MOINHOS DO ESTADO DO PARANÁ.

Daiane Precila Lanzarini
Especialista em Gestão da Qualidade na Tecnologia de Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Francisco Beltrão
Endereço: Linha Santa Bárbara, s/n, CEP: 85601-970, Caixa Postal 135, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil.
E-mail: day_pl@hotmail.com

Roberta Castro Martins
Acadêmica de Química pela Universidade Federal de Lavras Instituição: Universidade Federal de Lavras
Endereço: Departamento de Química. Câmpus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP:37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil.
E-mail: roberta.martins@estudante.ufla.br

Thalita Grando Rauen
Doutora em Físico-química pela Universidade Federal de Santa Catarina Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Francisco Beltrão
Endereço: Departamento Acadêmico de Química e Biologia. Linha Santa Bárbara, s/n, CEP: 85601-970, Caixa Postal 135, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil.
E-mail: tgrauen@utfpr.edu.br

Claudia Eugênia Castro Bravo
Doutora em Ciências dos Alimentos pela Universidade Federal de Lavras Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Francisco Beltrão
Endereço: Departamento Acadêmico de Química e Biologia. Linha Santa Bárbara, s/n, CEP: 85601-970, Caixa Postal 135, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil.
E-mail: claudiacastro@utfpr.edu.br

Ellen Porto Pinto
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Francisco Beltrão Endereço: Departamento Acadêmico de Ciências Agrárias. Linha Santa Bárbara, s/n, CEP: 85601-970, Caixa Postal 135, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil.
E-mail: ellenporto@utfpr.edu.br

RESUMO: Atualmente observa-se um aumento significativo pela procura de produtos derivados de farinha de trigo, devido ao seu importante papel nutricional, sendo o de maior destaque, o setor da panificação. Junto com o aumento do consumo crescem, também, as exigências impostas pelos consumidores. Para tanto, o uso de técnicas e procedimentos científicos para produção de farinhas com qualidade melhorada, torna-

se relevante. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes farinhas de trigo destinadas a panificação, denominadas tipo 1. Foram verificadas as propriedades físico-químicas (cinzas, umidade, cor) e reológicas (número de queda e força do glúten), buscando identificar se os parâmetros atendem a legislação vigente e corroboram com exemplos da literatura. As amostras de farinha de trigo foram coletadas em dez moinhos do estado do Paraná, sendo identificadas pelas letras A até J. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Das dez amostras de farinha de trigo avaliadas, apenas as amostras D, E e G encontraram-se aptas para serem usadas na panificação. Porém, os valores de tenacidade e extensibilidade (P/L) destas farinhas estavam acima do esperado para panificação, sendo necessário realizar a adição de melhoradores na farinha antes de sua utilização ou deve-se realizar a mistura de farinhas para possível correção.

PALAVRAS-CHAVE: Farinha tipo 1; Controle de qualidade; Reologia.

ABSTRACT: Actually, there is a significant increase in the demand for wheat flour products, due to their important nutritional role, with a greater emphasis on the bakery sector. Along with the increase in consumption, the demands imposed by consumers also grow. For this, the use of scientific techniques and procedures for the production of flour with improved quality becomes relevant. The aim of this work was evaluate wheat flour intended for baking type 1. The physical- chemical (ash, moisture, color) and rheological (falling number and gluten strength) properties were checked, seeking to identify whether the parameters meet current legislation and corroborate with examples from the literature. Wheat flour samples were collected in ten mills in the state of Paraná, identified by the letters A to J. All analyzes were performed in triplicate. Of the ten samples of wheat flour evaluated, only samples D, E and G could be used in baking. However, the tenacity and extensibility values (P / L) of these flours were higher than expected for bread making, making it necessary to add additives to the flour before using it, or to mix the flours for possible correction.

KEYWORDS: flour type 1; quality control; rheology.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente observa-se um forte aumento nas exigências impostas pelos consumidores, por produtos que os satisfaçam em todos os aspectos, principalmente no que se refere a garantia de qualidade do mesmo. Um produto que atualmente está ganhando muito destaque é a farinha de trigo devido a sua ampla aplicabilidade como matéria-prima para pães, bolos, massas, biscoitos, entre outros e por estar dividida entre farinha comum e integral.

Devido à enorme diversidade de genótipos de trigo e assim uma ampla diversidade de farinhas de trigo, é de suma importância a utilização de análises laboratoriais para determinar as características físico-químicas e reológicas das mesmas. Os métodos que são mais utilizados estão relacionados com a reologia da massa, através de uma simples mistura de água e farinha, a qual servirá para uma definição mais ampla do uso final da farinha (CALDEIRA; LIMA; RUMJANEK, 2003). Para analisar a reologia da massa pode-se utilizar a análise do número de queda. Este constata a presença da enzima α-amilase, dando indícios de quais serão as possíveis características finais de um pão. Outro método é a análise da força do glúten, determinado pelo aparelho alveógrafo, que indica as curvas de extensão, representando a força da farinha (ICTA, 2017).

Outras análises importantes que garantem a qualidade, estão relacionadas com os métodos físico-químicos, sendo: análise de cinzas, representando a quantidade de matéria mineral na farinha (ZARDO, 2010); análise de umidade, que avalia o percentual de água livre na farinha (ICTA, 2017); e análise de cor, que segundo a legislação brasileira, a farinha deve apresentar-se com cor branca e com tons leves de amarelo, marrom e cinza conforme a origem do trigo (BRASIL, 1996).

A farinha só deve ser utilizada após ter sido analisada pelo conjunto das análises mencionadas. O êxito nos resultados resultará em produtos de qualidade elevada, ou seja, contribuirá para que os produtos elaborados, derivados desse farináceo, apresentem boas características finais. Visto que a cada ano ocorre o melhoramento genético do grão de trigo, alterações no tipo de cultivo, solo, clima, secagem e armazenamento acabam por influenciar no produto final, obtendo-se assim farinhas com características diferentes (SCHEUER *et al*., 2011). Com isso, torna-se

difícil manter um padrão de qualidade da farinha, de um ano para o outro sem a utilização dos recursos científicos.

Com base nos dados apresentados, o presente trabalho tem por objetivo avaliar as farinhas de trigo destinadas a panificação, denominadas tipo 1, fabricadas em dez moinhos do estado do Paraná, quanto à qualidade físico-química (cinzas, umidade e cor) e reológica (número de queda e força do glúten), buscando verificar se as mesmas atendem a legislação vigente, quando existente, e também se estão de acordo com a literatura.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização das análises, foi feita a coleta de farinha em dez moinhos diferentes. Foram coletadas diretamente da bica dos moinhos, situados no estado do Paraná, sendo consideradas, segundo a legislação, como farinha tipo 1.

Estas farinhas, foram armazenadas conforme recomendação vigente, livres de qualquer contaminação que possa vir a alterar os resultados, protegida da luminosidade e umidade, até o seu devido uso.

As análises foram realizadas em triplicata, em laboratório terceirizado, seguindo a metodologia prevista pela legislação brasileira, através da Instrução Normativa do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento n.º 31, de 18 de outubro de 2005, que segue o método da *American Association of Cereal Chemists* (AACC, 2000). Para análise de umidade foi utilizado o método n.º 44-15 A e para análise de cinzas foi utilizado o método n.º 8-12 desta normativa (BRASIL, 2005). Para as demais análises de alveografia, número de queda e cor, onde não há de um método específico de julgamento na legislação brasileira, foi seguida a metodologia instituída também pela AACC (2000), através do método n.º 54-30 A para alveografia, método n.º 56-81 B para número de queda e o método n.º 14-22 para determinação da cor.

Para validação dos resultados, os dados das variáveis foram submetidos a análise estatística de variância (ANOVA) a 5 % de probabilidade e teste de Tukey, através do software *Statistica* versão 7.0 (STATSOFT, 2004).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O controle do percentual de umidade presente nas farinhas é de grande importância e deve ser controlado com eficiência, pois é através desse fator que ocorre a liberação para o início das reações químicas na farinha, o que alterará as características sensoriais, nutricionais e tecnológicas. Assim, para que ocorra uma boa conservação e garantia de qualidade durante o armazenamento da farinha no seu período de estocagem comercial, faz-se necessário que a mesma se encontre abaixo de 15 % (FARONI *et al.*, 2007).

A Tabela 1 mostra os resultados das análises dos parâmetros físico-químicos. Verifica- se que os teores de umidade de oito farinhas de trigo avaliadas estão de acordo com o que a legislação vigente estabelece. No entanto, as farinhas B e J, excederam o valor máximo de umidade estipulado pela legislação, que é de 15 % (BRASIL, 2005) (Tabela 1).

Tabela 1 – Resultados de umidade, cor (L) e cinzas das farinhas de trigo Tipo1, produzidas em diferentes moinhos do estado do Paraná.

Amostras	Parâmetros		
	Umidade (%) (-15)	Cor (L*)	Cinzas (%) (-0,8)
A	14,34 ± 0,36 bd	90,85 ± 0,85 c	0,78 ± 0,01 b
B	15,05 ± 0,31 c	94,15 ± 0,03 h	0,40 ± 0,02 b
C	13,83 ± 0,18 ab	93,04 ± 0,04 f	0,52 ± 0,01 b
D	13,89 ± 0,08 ab	91,95 ± 0,03 a	0,62 ± 0,02 c
E	13,50 ± 0,26 a	93,31 ± 0,02 g	0,48 ± 0,01 c
F	13,82 ± 0,12 ab	92,03 ± 0,05 a	0,58 ± 0,01 a
G	13,95 ± 0,22 ab	92,70 ± 0,00 e	0,48 ± 0,01 e
H	14,83 ± 0,05 cd	92,52 ± 0,02 d	0,60 ± 0,00 d
I	14,66 ± 0,09 cd	92,23 ± 0,01 b	0,64 ± 0,01 a
J	15,23 ± 0,18 c	92,35 ± 0,04 b	0,49 ± 0,01 a

*Resultados médios seguidos do desvio padrão. Valores na mesma coluna seguidos da mesma letra não diferem entre si (p>0,05).

Zimmermann *et al.* (2009) ao avaliar a umidade das farinhas de trigo comerciais comercializadas no município de Cascavel – PR, observaram que todas as amostras estavam dentro do valor permitido pela legislação. Neste estudo também foi observada essa condição para oito das amostras avaliadas.

Na análise de colorimetria os valores de luminosidade (L*) vão de 0 a 100, o que significa que quanto mais branca for a farinha maior será o seu valor de L*, ou seja, seu valor estará mais próximo de 100 (ORTOLAN; HECKTHEUER; MIRANDA, 2010).

Os resultados desta análise mostram que a farinha B apresentou valor de luminosidade (L*) mais elevado (94,15), sendo de coloração mais branca, e a farinha D foi a que apresentou o menor valor (91,95). Nas demais farinhas não houve diferença significativa nos valores de luminosidade avaliados (Tabela 1).

No entanto, todas as amostras tiveram índices de luminosidade altos. Segundo as características sensoriais das farinhas de trigo, sua cor deve ser branca, com tons leves de amarelo, marrom ou cinza, dependendo do trigo que essa farinha se origina (BRASIL, 1996). Zardo (2010) destaca que o atributo cor, é um dos elementos principais para a liberação das cargas de farinha de trigo pelas indústrias. Essa análise deve ser realizada pelo controle de qualidade antes do produto ser destinado ao consumidor. Na maioria das vezes, a cor da farinha de trigo acaba alterando as características finais dos produtos elaborados com esta, sendo um fator muito cobrado pelos consumidores, que dão preferência a farinhas mais claras. Este autor ainda relata que um dos principais fatores responsáveis pelas alterações da cor nas farinhas é o farelo de trigo. Para Ortolan (2006), a qualidade da farinha está relacionada com seu nível de coloração, podendo ser afetada por fatores extrínsecos (processo de secagem do trigo, condições de moagem e de armazenamento) e fatores intrínsecos (quantidade de mineral, proteína e pigmentos existentes).

Nos estudos de Miranda *et al*. (2011) todas as vinte e duas amostras de farinha de trigo de diferentes cultivares de trigo provenientes da EMBRAPA avaliadas obtiveram valores de luminosidade (L*) superior a 92.

Com relação ao percentual de cinzas das farinhas de trigo avaliadas, a farinha A obteve um percentual mais elevado (0,78 %) e a farinha B o menor percentual (0,40 %). Porém, todas as farinhas apresentaram teor de cinzas dentro do estabelecido pela legislação brasileira, que estabelece o limite máximo de 0,8 % para farinha de trigo tipo 1 (BRASIL, 2005) (Tabela 2). Segundo Guarienti (1996), os minerais encontram-se em maior quantidade na parte externa do grão de trigo, ou seja, no farelo. Por isso, um processo ineficiente de moagem pode agregar uma maior

quantidade de farelo na farinha aumentando assim a concentração de cinzas existentes, pois quanto maior a quantidade de farelo na farinha maior será o percentual de cinzas presentes. Também pode-se relacionar com a cor da farinha, pois quanto mais clara a farinha menos quantidade de cinzas estará presente (CEZAR, 2012).

No estudo de Zimmermann et al. (2009) duas amostras de farinha de trigo comerciais comercializados em Cascavel - PR, encontravam-se dentro dos padrões estabelecidos pela legislação para cinzas e as outras duas fora do limite estipulado. Freo et al. (2011) também avaliaram as propriedades físicas e tecnológicas das farinhas de trigo tratadas com terra diatomácea e não observaram variação neste parâmetro, onde apresentaram valores médios de 13,20%.

A Tabela 2 apresenta os resultados dos parâmetros reológicos analisados. Com relação a análise do número de queda, a farinha C apresentou o maior valor (390 segundos) e a farinha D o menor valor (280 segundos). Porém os valores encontrados para as farinhas A, B, C, F, I e J, segundo a literatura, são considerados valores acima do padrão estipulado para o número de queda, ficando apenas as amostras D, E, G e H dentro do esperado, apresentando teor ideal da enzima alfa-amilase (Tabela 2).

Tabela 2 – Resultados do número de queda, índice de força do glúten (W) e tenacidade e extensibilidade (P/L) das farinhas de trigo Tipo 1, produzidas em diferentes moinhos do estado do Paraná.

Amostras	Parâmetros		
	Número de Queda (s) (200 a 350s)	W (10^{-4} Joules) (+300)	P/L (0,6 a 1,2)
A	378,00 ± 4,0 b*	285,33 ± 5,50 abcd	5,61 ± 0,68 e
B	374,66 ± 6,65 b	225,66 ± 3,78 a	3,78 ± 0,33 d
C	390,00 ± 6,08 b	384,33 ± 18,58 f	1,93 ± 0,30 abc
D	280,00 ± 2,0 c	342,33 ± 12,66 def	1,54 ± 0,10 a
E	282,33 ± 1,52 c	355,33 ± 33,65 ef	1,60 ± 0,20 a
F	352,66 ± 7,76 a	274,33 ± 41,40 abc	2,94 ± 0,60 cd
G	326,33 ± 5,85 e	315,66 17,03 bcde	1,69 ± 0,17 ab
H	298,33 ± 3,055 d	269,00 ± 7,21 ab	3,64 ± 0,44 d
I	355,66 ± 7,57 a	339,33 26,55 cdef	2,17 ± 0,31 abc
J	351,33 ± 4,16 a	265,00 ± 25,53 ab	2,81 ± 0,28 bcd

*Resultados médios seguidos do desvio padrão. Valores na mesma coluna seguidos da mesma letra não diferem entre si (p>0,05).

Segundo Cezar (2012), os valores ideais de número de queda para serem usados em panificação é entre 200 a 350 segundos, pois valores inferiores a 150 segundos representam uma quantidade excessiva de atividade enzimática e valores acima de 350 segundos representam uma baixa atividade enzimática. Quando os valores da alfa-amilase se apresentam altos, isso implicará nas características finais dos pães, deixando-os murchos e avermelhados. Já em quantidades menores que a esperada, tornam o pão com pouco volume, coloração pálida, dificuldade durante a fermentação e miolo pegajoso (ZARDO, 2010).

Em estudos realizados por Ingver e Koppel (1998), observou-se bons valores de número de queda para a farinha panificável, os quais variaram entre 220 e 250 segundos. Costa *et al*. (2008) avaliaram a qualidade tecnológica de farinhas produzidas a partir de trigos nacionais e importadas e verificaram que as farinhas

obtidas de trigo importado apresentaram número de queda de 250 segundos sendo compatíveis com o trigo melhorador, que é preferencialmente utilizado na indústria de mesclas para melhorar a qualidade do produto final.

Já as farinhas obtidas de trigo nacional apresentaram-se compatíveis com o trigo pão e brando (número de queda menor que 250 segundos), as quais são mais apropriadas para o uso em panificação. Os resultados obtidos na avaliação da força do glúten (W) através da alveografia (Tabela 2), demonstraram que as farinhas C, D, E, G, I apresentaram altos valores para força do glúten, sendo consideradas fortes e as demais apresentaram valores baixos, consideradas fracas.

Com relação a avaliação da tenacidade e extensibilidade (P/L), podemos destacar que nenhuma das amostras de farinha de trigo avaliadas obtiveram bons resultados, ficando todas com altos valores, representando uma farinha de glúten tenaz.

Segundo Zardo (2010), deve-se utilizar para a produção de pães farinhas que apresentem glúten forte e já para produtos de confeitaria e biscoitos deve-se optar por uma farinha de glúten fraco. Pode-se considerar uma farinha de trigo com glúten forte, aquela que apresentar seu valor de W superior a 300 x 10^{-4} Joules e glúten fraco a que tiver valor inferior a 150 x 10^{-4} Joules (ROSA; ROSA FILHO, 1998).

Em trabalho realizado por Ortolan (2006), sete das dez amostras analisadas obtiveram valores acima de 300 x 10^{-4} Joules, sendo consideradas fortes. O autor ainda destaca que a alveografia tem papel importante para a obtenção de bons produtos, pois seus resultados simulam o comportamento que a massa sofrerá durante o processo fermentativo, aparentando os alvéolos da massa formados pelo gás carbônico produzido pelo fermento.

Guarienti (1993) propõe valores de P/L menores que 0,6 para glúten extensível; de 0,6 a 1,2, para glúten balanceado e acima de 1,21, para glúten tenaz, onde nesse caso apresentará uma alta elasticidade (muita glutenina), proporcionando pães firmes e de pequeno volume. Zardo (3) destaca que o equilíbrio da massa é dado pelos valores de P/L, que correspondem a força e a extensibilidade presente. Para farinhas panificáveis o valor ideal de P/L é de 0,50 a 1,20, correspondendo a uma farinha balanceada (ORTOLAN, 2006).

No trabalho de Miranda *et al.* (2011), apenas uma amostra de farinha de trigo das vinte e duas analisadas obteve P/L com glúten tenaz, as demais obtiveram glúten balanceado.

CONCLUSÃO

Das dez amostras de farinha de trigo avaliadas, apenas as amostras D, E e G encontraram-se aptas para serem usadas na panificação. Porém apresentaram, como as demais amostras, o resultado da tenacidade e extensibilidade (P/L) acima do esperado para panificação. Recomenda-se realizar a adição de melhoradores na farinha antes de sua utilização, ou seja, enzimas as quais proporcionarão as características referentes aos fins específicos para determinado pão, ou então, deve-se realizar a mescla de diferentes farinhas para possível correção.

Os resultados deste e de outros trabalhos, também aqui citados, mostram a relevância de uma revisão e ampliação das análises exigidas pela legislação brasileira para farinha de trigo, incluindo avaliações como alveografia e número de queda, que já são rotinas nas indústrias e, mostram-se de extrema importância para assegurar a oferta de um produto de melhor qualidade para o consumidor.

REFERÊNCIAS

AACC -American Association of Cereal Chemists. **Approved Methods of the America n Association of Cereal Chemists**. 10. ed. Saint Paul: AACC, 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 354, de 18 de julho de 1996. Aprova o regulamento técnico sobre a maneira que a farinha de trigo deve ser produzida. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 de julho de 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.º 8, de 2 de junho de 2005. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Farinha de Trigo, conforme o anexo desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2 de junho de 2005.

CALDEIRA, M. T. M.; LIMA, V. L. A.; SEKI, H. A.; RUMJANEK, F. D. Diversidade de trigos, tipificação de farinhas e genotipagem. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v.16, n.1, p. 44-48, 2003.

CEZAR, A. P. C. **Controle de Qualidade na Farinha de Trigo**. 26f. Trabalho de Estágio Supervisionado (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná-Campus Campo Mourão, Campo Mourão, 2012.

COSTA, M. G. D. A.; SOUZA, E. L. D. E.; STAMFORD, T. L. M.; ANDRADE, S. A. C. Qualidade tecnológica de grãos e farinhas de trigo nacionais e importados. **Revista Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n.1, p. 220-225, 2008.

FARONI, L. R. D.; BERBERT, P. A.; MARTINAZZO, A. P.; COELHO, E. M. Qualidade da Farinha Obtida de Grãos de Trigo Fumigados com Dióxido de Carbono e Fosfina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** v.6, n. 2, p. 115-119, 2007.

FREO, J. D.; MORAES, L. B. D. D. E.; COLUSSI, R.; MOSSMANN, J.; ELIAS, M. C.; GUTKOSKI, L. C. Propriedades físicas e tecnológicas de farinha de trigo tratada com terra diatomácea. **Revista Ciência Rural**, v.41, n.6, p. 1076-1081, 2011.

GUARIENTI, E. M. **Qualidade industrial do trigo.** Passo Fundo: EMBRAPA/CNPT, Doc. 8, 1993.

GUARIENTI, E. **Qualidade Industrial de Trigo.** 2 ed. Passo Fundo: EMBRAPA- CNPT, 1996.

ICTA. Instituto de Ciência e Tecnologia em Alimentos. **Avaliação da qualidade tecnológica/industrial da farinha de trigo**. Disponível em: http://thor.sead.ufrgs.br/objetos/avaliacao-farinha-trigo/index.php>. Acesso em: abr 2017.

INGVER, A.; KOPPEL, R. **The amylase content and its influence on grain quality of spring wheat**. In: Genetics and breeding of cereal crops. Harku: Estonian Agricultural University, 1998.

MIRANDA, M. Z.; GUARIENTI, E. M.; BASSOI, M. C.; SCHEEREN, P. L.; SILVA, M. S.; CAIERRÃO, E. **Qualidade tecnológica de cultivares de trigo da Embrapa indicadas para o Paraná na safra 2011**. EMBRAPA Trigo: Passo Fundo, 2011.

ORTOLAN, F. **Genótipos de trigo do Paraná – safra 2004: caracterização e fatores relacionados à alteração da cor da farinha**. 140f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

ORTOLAN, F.; HECKTHEUER, L. H.; MIRANDA, M. Z. Efeito do armazenamento à baixa temperatura (–4 °C) na cor e no teor de acidez da farinha de trigo. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n.1, p. 55-59, 2010.

ROSA, O. S.; ROSA FILHO, O. **Trigo Brasileiro: Acredite nessa Ideia**. Correio Agrícola – Bayer. 1998.

SCHEUER, P. M.; FRANCISCO, A. D. E.; MIRANDA, M. Z. D. E.; LIMBERGER, V. M. Trigo: características e utilização na panificação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.13, n. 2, p. 211-222, 2011.

STATSOFT INC. **Statistica data analysis system version 7.0**. Tulsa: Stattsoft Inc., 2004.
ZARDO, F. P. **Análises laboratoriais para o controle de qualidade da farinha de trigo**. 46f. TCC (Trabalho de Conclusão de Curso) - Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, Bento Gonçalves, 2010.

ZIMMERMANN, L. O. G.; SEDOR, J.; NORETO, L. M.; SANTIAGO, W. E.; FERREIRA, D. T. L. Avaliação Físico-química e Reológica das Principais Farinhas de Trigo Comercializadas em Padarias do Município de Cascavel. In: **Anais do 1º Seminário Internacional de Ciência, Tecnologia e Ambiente.** UNIOESTE; Cascavel, Anais, 2009.

CAPÍTULO 10

CONCENTRAÇÃO DE AMIDO EM FOLHAS DE VIDEIRA: VARIAÇÕES A PARTIR DA FOTO-EXPOSIÇÃO.

Carlos Alberto Araripe
Estudante do Curso Superior de Tecnologia em Viticultura e Enologia Instituição: IFSP Campus São Roque
E-mail: prof.araripe@gmail.com

Flávio Trevisan
Professor do Curso Superior de Tecnologia em Viticultura e Enologia Instituição: IFSP Campus São Roque
E-mail: flaviotrevisan@ifsp.edu.br

Cintia Carpinski
Estudante do Curso Superior de Tecnologia em Viticultura e Enologia Instituição: IFSP Campus São Roque
E-mail: cicarpinski@gmail.com

Fernando Barbosa dos Santos
Estudante do Curso Superior de Tecnologia em Viticultura e Enologia Instituição: IFSP Campus São Roque
E-mail: muribinhalive@gmail.com

Daniela Peres
Estudante do Curso Superior de Tecnologia em Viticultura e Enologi Instituição: IFSP Campus São Roque
E-mail: daniperes0405@gmail.com

RESUMO: O amido é a substância orgânica produzida no final do processo da fotossíntese, ficando estocado ao longo da planta: raízes, caule, frutos, sementes e folhas. Trata-se da principal fonte de energia dos organismos vegetais e para o restante da cadeia alimentar, de forma direta ou indireta. Sendo a produção de amido diretamente relacionada à fotossíntese, qual seria o impacto sobre a produção dessa substância vital à planta e por extensão ao ciclo vital sobre a Terra, se o processo fosse limitado por períodos, curtos, médios, longos e permanentes de insolação? O presente experimento baseou-se nessa premissa de que diferentes níveis de exposição solar, trariam diferenças na produção de amido nas olhas de diferentes videiras. Assim, a partir da utilização de diferentes "sombrites" e saco plástico, 4 plantas foram monitoradas durante o período de 45 dias, registrando-se de forma qualitativa, por meio do método de revelação de amido, descrito no trabalho, o nível de produção de amido de cada uma delas. Ao final os resultados obtidos corroboraram com a expectativa de que, quanto maior a exposição solar, maior é a produção de amido nas folhas de videiras.

PALAVRAS-CHAVE: Fotossíntese; Foto exposição; Concentração de amido

ABSTRACT: Starch is the organic substance produced at the end of the photosynthesis process, being stored throughout the plant: roots, stem, fruits, seeds and leaves. It is the main source of energy for plant organisms and the rest of the food chain, directly or indirectly. Since starch production is directly related to photosynthesis, what would be the impact on the production of this plant- vital substance and by extending the Earth's life cycle if the process were limited by short, medium, long and permanent periods of sunshine? The present experiment tries to answer this in a didactic way, from the observation of plants in different states of sun exposure. This is not unprecedented work, as Prado & Casali (2006) report similar experience with Coleus.sp leaves (Labiateae) and Ricardo ett all, (2018), report experience on bean leaves. What is presented as a novelty is the use of vine leaves (Vitis Labrusca), whose scope and results are very important for the area of viticulture and oenology.

KEYWORDS: Photosyntesis, Photo Exposition; vine leaves; Starch concentration.

1. INTRODUÇÃO

Sendo a fotossíntese o único processo existente na natureza capaz de sintetizar a energia solar, sua importância para a vida na Terra é inquestionável. No processo fotossintético, as plantas por meio das estruturas clorofiladas das folhas, absorvem a energia solar, que, a partir da oxidação da água presente no cloroplasto, libera O2 para o ambiente e energia para a planta na forma de ATP e NADPH que são transformados na fase de carboxilação, (Ciclo de Calvin)[1], em carboidratos, que são armazenados na estrutura da planta, na forma de sacarose conduzida pelo floema, e amido, sintetizado no cloroplasto (TAIZ, 2013).

Há indícios arqueológicos de que o cultivo da videira, enquanto planta domesticada, se dá há milhares de anos, estando presente na história, na arte e na religião das civilizações humanas em diferentes momentos da história (JOHNSON, 1999). No Brasil, o cultivo de videiras, data da chegada de Martin Afonso de Souza, pelos idos de 1532. De lá para cá, essa cultura sofreu revezes, declínio e quase abandono, sendo resgatada com a leva de imigrantes italianos no início do século XX. O quadro presente mostra que, a produção de uvas no Brasil, seja para consumo, denominada de uva de mesa, seja para a produção de vinho, tem crescido de forma exponencial nas últimas duas décadas, sendo encontrados vinhedos produtivos, em todo o território nacional, excetuando-se a Região Norte. Com a crescente e significativa cadeia produtiva da videira e seus derivados, a demanda de conhecimentos sobre o comportamento dessa planta, se faz cada vez mais presente, de forma a entender sua dinâmica produtiva e seu comportamento frente a diferentes situações ambientais.

Observar o comportamento fotossintético de folhas de videira sob diferentes condições de exposição solar, pode nos dizer algo sobre a produção de energia dessa planta em diferentes locais e regiões, cuja variação de incidência solar varia ao longo do ano e das estações climáticas, permitindo a geração de importantes informações a pesquisadores e agricultores envolvidos com a viticultura.

[1] O Ciclo de Calvin, é um processo que ocorre em organismos fotossintetizantes onde ocorre a fixação de dióxido de carbono.

Partindo-se de tal pressuposto, relatamos neste artigo o experimento de foto exposição realizado no período de 01 de abril a 30 de maio de 2019, em videiras de Vitis Labrusca, do vinhedo experimental do IFSP – Câmpus São Roque.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Baseados em estudos anteriores apresentados por Prado & Casali (2006), que relataram experiência de revelação de amido, realizada com folhas de Coleus.sp (Labiateae) e Alves ett all, (2018), que relataram a mesma experiência em folhas de feijão, definimos como materiais para execução do experimento, os itens que se seguem:

- Sombrite com 40 % de bloqueio solar;
- Sombrite com 80 % de bloqueio solar;
- Lona plástica preta;
- 8 Placas de petri;
- 3 Béqueres de 1L;
- Bandeja para banho Maria;
- Pinças;
- Álcool 92INPI;
- Lugol.

Foram escolhidas 4 videiras numa linha do viveiro experimental do Curso Superior em Viticultura e Enologia do IFSP – Campus São Roque.

Uma das videiras recebeu um sombrite de 40 % de bloqueio solar sobre as folhas do ápice; outra, um sombrite de 80 % de bloqueio solar sobre as folhas do ápice e uma terceira, teve o ápice coberto por um plástico preto, impedindo qualquer incidência luminosa sobre as folhas. A quarta videira ficou como referência para a situação de insolação a 100 %, portanto fotossíntese plena.

O método de revelação de amido (PRADO, 2006), se dá a partir da colheita das folhas do ápice de cada videira, sendo posteriormente cozidas em água a 100°C e embebidas em Álcool 92 INPI fervente. Após passar pelo álcool, as folhas são submersas por 5 minutos numa solução de água e lugol. O resultado é a revelação do amido nas folhas a partir da evidência dos pontos escuros.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O experimento aferiu 4 resultados quinzenais, sendo descartados os 2 primeiros por questões de ordem técnica e qualidade dos materiais. A partir da terceira aferição, foi possível observar o impacto da produção de amido sobre as folhas com sombrite, havendo decréscimo considerável sobre aquelas com menor foto-exposição (FIGURA 1). Na quarta aferição, observou-se ainda mais claramente a dinâmica da revelação de amido, onde a folha de referência surge com alta concentração, seguida da folha do sombrite 40 %, sendo muito pouco na folha do sombrite 80 % e praticamente nulo da folha coberta com lona plástica preta.

FIGURA 1. Revelação do amido na terceira aferição (45 dias do experimento).

Fonte: Os Autores

FIGURA 2. Revelação do amido na quarta aferição (60 dias do experimento).

Fonte: Os Autores

4. CONCLUSÕES

Considerando que a fotossíntese é fator extremamente relevante para a produção de energia pelas plantas, o sombreamento, seja ele natural ou artificialmente criado, como é o caso do presente experimento, pode influenciar de maneira drástica o resultado do processo.

Isso fica demonstrado a partir das aferições apresentadas no presente trabalho, realizadas com 45 e 60 dias do experimento onde a folha de referência e aquelas sombreadas apresentaram um comportamento dentro da hipótese prevista de que, quanto maior o sombreamento, menor a quantidade de amido revelado.

Os resultados, sendo todos qualitativos, observáveis a partir da premissa simples de diferentes nuances de coloração para indicar maior ou menor produção de amido nas folhas da videira, remetem a um estudo mais sofisticado, onde se possa quantificar o volume de amido em cada folha submetida ao experimento.

A possibilidade de medição quantitativa pode levar inclusive, à aferição da eficiência na produção de amido, em diferentes *terroir*, de diferentes latitudes do planeta, ficando ai, uma proposta parta futuros estudos sobre foto exposição da videira.

REFERÊNCIAS

ALVES, Leonardo Augusto, *et al*. O EFEITO DE DIFERENTES TELAS NA FOTOSSÍNTESE E ACÚMULO DE AMIDO EM FEIJOEIRO. VII JPCT e X CIPATEC – IFSP, São Roque, 2018.

JOHNSON, Hugh. A HISTÓRIA DO VINHO. São Paulo: Cia da Letras, 1999.

PRADO, Carlos Henriique B. de A.; CASALI, Carlos A. FISIOLOGIA VEGETAL. Barueri SP: Manole, 2006.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. FISIOLOGIA VEGETAL. Porto Alegre: ARTMED, 2013.

CAPÍTULO 11

ASSIMILATION OF AMINO ACIDS PRESENT IN MUST BASED ON SUGARCANE JUICE BY *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* UNDER FERMENTATIVE STRESS.

Nislene Pires dos Santos
Mestre em Recursos Naturais pelo Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais/PGRN Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul/UEMS
Cidade Universitária, Rodovia Itahum, Km 12 s/n - Jardim Aeroporto, Dourados - MS, 79804-970, Brasil
E-mail: nislene5@hotmail.com

Maria do Socorro Mascarenhas Santos
Doutoranda do Programa de Pós-Graduação Graduação em Recursos Naturais/PGRN Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul/UEMS
Cidade Universitária, Rodovia Itahum, Km 12 s/n - Jardim Aeroporto, Dourados - MS, 79804-970, Brasil
E-mail: maria_mascarenhas@outlook.com

Claudia Andrea Lima Cardoso
Doutora em Química Instituto de Química de Araraquara -UNESP Docente do Programa de Pós-Graduação Graduação em Recursos Naturais/PGRN
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul/UEMS
Cidade Universitária, Rodovia Itahum, Km 12 s/n - Jardim Aeroporto, Dourados - MS, 79804-970, Brasil
E-mail: claudiacardosouems1@gmail.com

Margareth Batistote
Doutora em Biotecnologia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - Instituto de Instituto de Química
Docente do Programa de Pós-Graduação Graduação em Recursos Naturais/PGRN Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul/UEMS
Cidade Universitária, Rodovia Itahum, Km 12 s/n - Jardim Aeroporto, Dourados - MS, 79804-970, Brasil
E-mail: margareth@uems.br

ABSTRACT: In Brazil, sugar cane juice and molasses are used as a substrate for the production of ethanol. This substrate is called wort and is rich in carbon source and low in nitrogen source. Thus, this study aims to evaluate the assimilation profile of amino acids present in the must based on sugarcane juice by the yeasts *Saccharomyces cerevisiae* under different conditions of fermentative stress. Catanduva-1 and Red Star strains were used, grown in the medium (2 % YPD), sterilized at 120 ° C for 20 minutes and incubated at 30 ° C for 10 hours to produce biomass that was inoculated in the base fermentation medium. of wort in concentrations of (18, 22 and 25) ° Brix at temperatures of 30 ° C and 40 ° C, and aliquots were collected at different times for the analysis of amino acid assimilation. Amino acid quantification was performed by high performance liquid chromatography (HPLC). It is possible to observe that there was a difference in the assimilation profile of the amino acids present in the must by

Saccharomyces cerevisiae, mainly in relation to the concentrations of the amino acids valine, methionine, alanine, threonine and tryptophan. According to the discriminant analysis, fermentation time and temperature were determining factors for the consumption of yeast amino acids.

KEYWORDS: Carbon and nitrogen sources, Yeast, Metabolism, Ethanol production.

RESUMO: No Brasil, o suco e o melaço de cana-de-açúcar são utilizados como substrato para a produção de etanol. Este substrato recebe o nome de mosto e é rico em fonte de carbono e pobre em fonte de nitrogênio. Assim, este estudo visa avaliar o perfil de assimilação de aminoácidos presentes no mosto à base de suco de cana-de-açúcar pelas leveduras indústrias *Saccharomyces cerevisiae* em diferentes condições de estresse fermentativo. Foram utilizadas as linhagens Catanduva-1 e Red Star, cultivadas no meio (YPD 2 %), esterilizadas a 120 °C por 20 minutos e incubadas a 30 °C por 10 horas para produção de biomassa que foi inoculada no meio de fermentação à base de mosto em concentrações de (18, 22 e 25) °Brix a temperaturas de 30 °C e 40 °C, e alíquotas foram coletadas em diferentes momentos para análise da assimilação de aminoácidos. A quantificação de aminoácidos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). É possível observar que houve diferença no perfil de assimilação dos aminoácidos presentes no mosto por *Saccharomyces cerevisiae*, principalmente em relação às concentrações dos aminoácidos valina, metionina, alanina, treonina e triptofano. De acordo com a análise discriminante, o tempo e a temperatura de fermentação foram fatores determinantes para o consumo de aminoácidos pelas leveduras.

PALAVRAS-CHAVE: Fontes de carbono e nitrogênio, Leveduras, Metabolismo, Produção de etanol.

1. INTRODUCTION

Environmental problems related to global warming and fossil fuel reserves scarcity have promoted the search for new raw materials to compose the diversification in the energy matrix. Thus, the research on biofuels are being carried out in order to make it a viable alternative to fossil fuels (ISMAIL *et al*., 2014; ZABED *et al*., 2016). As an example, there is the ethanol that has arousing world interest by being a renewable energy source that can contribute positively to reducing environmental problems related to the emission of greenhouse gases (BELLIDO *et al*., 2013; ZABED *et al*., 2016).

In Brazil, the ethanol production process uses sugarcane as raw material resulting in a successful large-scale bioprocess because besides being economically competitive and causing less impact to the environment (DELLA-BIANCA; GOMBERT, 2013), being called first generation ethanol (AZHAR *et al*., 2017). This country stands out as an important developer of technologies and is the second largest producer of this fuel in the world (TÁVORA, 2011; NOGUEIRA and CAPAZ, 2013). Among the several microorganisms producers of ethanol the yeast *Saccharomyces cerevisiae* stands out being widely used by industries of this sector (MA and LIU, 2010). According to Souza and Monteiro (2010), in the process of ethanolic fermentation other compounds are produced in addition to ethanol, such as glycerol, organic acids, acetaldehyde, acetoin, butylene glycol that can be used in different industrial processes. The advantages of using yeasts range from cultivation to employment in different industrial sectors, composing a source of research for biotechnological processes (HERNÁNDEZ-CARBAJAL *et al*., 2013).

In these processes, in which the yeasts *Saccharomyces cerevisiae* are present, the growth substrates must contain compounds such as carbon source, nitrogen source and also mineral salts and vitamins. However, the main compounds used by these microorganisms as carbon source are the monosaccharides (fructose, glucose and galactose) and disaccharides (maltose and sucrose) and as sources of nitrogen, peptides, amino acids and ammonium salts (SANTOS *et al*., 2013). These microorganisms are used by man since ancient times, being notorious the numerous benefits they provide and play a key role in the industrial processes of foods,

pharmaceuticals, ethanol production, among other (KURTZMAN, FELL and BOEKHOUT, 2011).

In Brazil, ethanol production consists of a fermentation process in which yeasts are added to a substrate constituted by a mixture of sugarcane juice and molasses, the must[13] which is rich in carbon source and low in nitrogen source, composed of high percentages of sugars with contents between 15.5-24 % of sucrose, 0.2-1 , 0 % glucose and 0.0-0.5 % fructose plus 75-82 % water and presence of acids, waxes, fats, dyes and inorganic salts, SiO, K2O, CaO, MgO, among others (HARI, JEBITTA AND SIVARAMAN, 2013; MARQUES *et al*., 2008).

For this process yeasts are required that have a high viability rate, since it is carried out in batches with cell recycling (SILVA *et al*., 2016).

Nitrogenous sources have a high molecular weight and are composed by proteins (albumin, nucleins and albuminose), amino acids, aspartic acid and glutamic acid, alanine, leucine, glycine, lysine, thyroxine, valine, isoleucine, can be metabolized by yeasts (BUTZKE and PARK, 2011). Therefore, the availability of carbon and nitrogen sources can affect the metabolism of yeasts during fermentation process, and can contribute to limit the formation of secondary products (GUTIÉRREZ-RIVERA *et al*., 2015; CARRILLO *et al*., 2012). On the other hand, the assimilation of amino acids can accelerate the speed of substrate degradation leading to an increase in cell viability rate resulting in higher ethanol production (WANG *et al*., 2012). Thus, this study aims to evaluate the assimilation profile of amino acids present in the must based on sugarcane juice by the yeasts *Saccharomyces cerevisiae* under different conditions of fermentative stress.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. MICROORGANISM

The strain Catanduva-1 and the Red Star.

2.2. PRE-INOCULUM

For the pre-inoculum we used the classic cultivation midst YPD 2 %, composed of 1.0 % of yeast extract, 1.0 % peptone, 2.0 % glucose, with pH adjusted to 5.0 with hydrochloric acid 1N and autoclaved at 120 °C for 20 minutes, in which were inoculated

0.10g of lyophilized yeast and incubated at 30 °C for 24h at 200 rpm. After the growth period the cells were centrifuged (800 g, 20 min), then resuspended and rinsed three times in sterile saline solution (0.85 %), resulting in a concentration of 10 mg mL^{-1} of wet mass.

2.3. FERMENTATIVE MIDST

The fermentative assays were performed on Erlenmeyer flasks 125 mL containing 50 mL of must based on sugarcane juice at concentrations of (18, 22 and 25) °Brix, which were promptly adjusted with a saccharimeter, without correction of pH, and sterilized at 120 ºC for 20 minutes. After cooling, the biomass was inoculated and incubated at temperatures of 30 and 40 ºC at 250 rpm. Aliquots were collected at different fermentation times and used for the analyses of amino acid assimilation.

2.4. ANALYTIC METHODS

2.4.1. AMINO ACID DETERMINATION

Furthermore, during the fermentation process, the yeasts are exposed to numerous stressing factors such as abundance or scarcity of nutrients, temperature, substrate concentration, ethanol, glycerol, acidic compounds and contaminants. In this sense, the interaction of the carbon and nitrogen sources on metabolism of the yeast is an important fator for fermentative efficiency and consequently, it is necessary to know the metabolism of yeasts with biotechnological potential for ethanol production. Thus, the study aims to assess the profile of assimilation of amino acids present in must based on sugarcane juice by *Saccharomyces cerevisiae* industries under fermentative stress.

For identification and quantification of the amino acids, the standards (serine, threonine, alanine, valine, methionine, isoleucine and tryptophan) were analyzed to obtain the analytical curves, by external standard method, under the same conditions employed for the real samples. The data obtained in the analyses of the standards, at different concentrations, were used for the construction of analytical curves and to obtain the correlation coefficient, angular coefficient and linear coefficient values.

2.5. STATISTICAL ANALYSIS

To assess whether there are significant differences between the amino acid composition of the different groups of samples, discriminant analyses were applied using each amino acid concentrations identified in the samples. The value of Wilks lambda was used to indicate the separation of the groups, in which values close to 0 indicate that the groups are different from each other, while values close to 1 indicate high overlap of groups and, consequently no significant difference between them. In addition, we used the value of $p < 0.05$ for indication of significant differences.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The analysis of consumption of amino acids profile by strains of *Saccharomyces cerevisiae* under fermentative stress, showed that the yeasts studied presented differences in relation to assimilation and to the concentration of these compounds at longer times of fermentation. Table 1 shows the amino acids present in must based on sugarcane juice.

Table 1 – Concentration of amino acids, present in must based on sugarcane juice under different fermentative conditions of strains Catanduva-1 and Red Star.

Code		Amino acids (g L^{-1})						
		Serine	Threonine	Alanine	Valine	Methionine	Isoleucine	Tryptophan
Temperature 30°C				**Catanduva-1**	**M ± SD***			
18°Brix	0 h	11.00±0.04	5.87±0.09	10.95±0.01	9.15±0.00	8.30±0.01	3.40±0.00	4.06±0.01
	20 h	7.75 ± 0.12	3.88 ± 0.03	8.54 ± 0.08	7.73 ± 0.08	6.73± 0.04	1.74± 0.04	2.82 ± 0.09
	40 h	7.33 ± 0.02	3.38 ± 0.01	8.29 ± 0.02	7.32 ± 0.02	6.32± 0.02	1.41± 0.02	2.47 ± 0.02
	60 h	7.16 ± 0.08	3.19 ± 0.05	8.24 ± 0.12	7.83 ± 0.11	6.36± 0.09	1.31± 0.04	2.16 ± 0.10
22°Brix	0 h	11.30± 0.03	5.66± 0.07	10.60± 0.03	8.76± 0.05	8.32± 0.05	3.25± 0.03	3.95± 0.00
	20 h	7.76 ± 0.04	3.87 ± 0.03	8.53 ± 0.03	7.71 ± 0.03	6.71 ± 0.03	1.77 ± 0.08	2.82 ± 0.05
	40 h	7.30 ± 0.05	3.31 ± 0.09	8.28 ± 0.08	7.34 ± 0.05	6.34 ± 0.05	1.43 ± 0.03	2.50 ± 0.05
	60 h	7.19 ± 0.08	3.20 ± 0.07	8.20 ± 0.09	7.44 ± 0.08	6.44 ± 0.08	1.31 ± 0.05	2.15 ± 0.17
25°Brix	0 h	11.45± 0.03	5.84± 0.02	10.77± 0.06	8.73± 0.02	8.35± 0.05	3.30± 0.02	4.00± 0.09
	20 h	7.79 ± 0.07	3.88 ± 0.05	8.62 ± 0.03	7.73 ± 0.03	6.71 ± 0.02	1.75 ± 0.05	2.83 ± 0.07
	40 h	7.40 ± 0.18	3.45 ± 0.21	8.30 ± 0.20	7.39 ± 0.20	6.38 ± 0.19	1.45 ± 0.12	2.51 ± 0.14
	60 h	7.18 ± 0.07	3.17 ± 0.05	8.15 ± 0.07	7.36 ± 0.09	6.37 ± 0.06	1.29 ± 0.02	2.18 ± 0.07
Temperature 40°C								
18°Brix	0 h	11.00±0.04	5.87±0.09	10.95±0.01	9.15±0.00	8.30±0.01	3.40±0.00	4.06±0.01
	20 h	7.84 ± 0.00	3.88 ± 0.02	8.48 ± 0.00	7.71 ± 0.04	7.71 ± 0.05	1.81 ± 0.05	2.76 ± 0.02
	40 h	7.39 ± 0.02	3.38 ± 0.00	8.26 ± 0.02	7.36 ± 0.01	6.34 ± 0.02	1.44 ± 0.02	2.53 ± 0.00
	60 h	7.09 ± 0.02	3.09 ± 0.03	8.09 ± 0.02	7.17 ± 0.06	6.17 ± 0.06	1.19 ± 0.03	2.16 ± 0.02
22°Brix	0 h	11.30± 0.03	5.66± 0.07	10.60± 0.03	8.76± 0.05	8.32± 0.05	3.25± 0.03	3.95± 0.00
	20 h	7.85± 0.03	3.85 ± 0.09	8.48 ± 0.00	7.77 ± 0.05	7.75 ± 0.05	1.81 ± 0.03	2.83 ± 0.04
	40 h	7.33 ± 0.02	3.39 ± 0.03	8.30 ± 0.03	7.29 ± 0.01	6.29 ± 0.02	1.39 ± 0.00	2.46 ± 0.00
	60 h	7.09 ± 0.03	3.11 ± 0.02	8.11 ± 0.02	7.16 ± 0.05	6.17 ± 0.04	1.21 ± 0.05	2.17 ± 0.00
25°Brix	0 h	11.45± 0.03	5.84± 0.02	10.77± 0.06	8.73± 0.02	8.35± 0.05	3.30± 0.02	4.00± 0.09
	20 h	7.86 ± 0.09	3.88 ± 0.04	8.53 ± 0.00	7.77 ± 0.11	7.77 ± 0.11	1.76 ± 0.11	2.78 ± 0.08
	40 h	7.36 ± 0.03	3.37 ± 0.06	8.32 ± 0.05	7.34 ± 0.02	6.34 ± 0.02	1.42 ± 0.02	2.51 ± 0.00
	60 h	7.12 ± 0.02	3.13 ± 0.00	8.12 ± 0.02	7.19 ± 0.04	6.18 ± 0.02	1.22 ± 0.03	2.12 ± 0.02
Temperature 30°C					**Red Star**	**M ± SD***		
18°Brix	0 h	11.00±0.04	5.87±0.09	10.95±0.01	9.15±0.00	8.30±0.01	3.40±0.00	4.06±0.01
	20 h	10.26±0.01	5.25 ± 0.04	10.21± 0.02	8.40 ± 0.02	7.40± 0.02	2.93± 0.00	3.76± 0.07
	40 h	10.26±0.01	5.25 ± 0.04	10.21± 0.02	8.40± 0.02	7.40± 0.02	2.93± 0.00	3.76± 0.07
	60 h	9.13 ± 0.04	4.19 ± 0.05	9.10± 0.07	7.27± 0.07	6.27± 0.07	2.26± 0.05	3.31± 0.04
22°Brix	0 h	11.30± 0.03	5.66± 0.07	10.60± 0.03	8.76± 0.05	8.32± 0.05	3.25± 0.03	3.95± 0.00
	20 h	10.35±0.09	5.25 ± 0.01	10.19 ± 0.0	8.40± 0.02	7.38± 0.02	2.98± 0.04	3.74± 0.02
	40 h	9.53 ± 0.31	4.61 ± 0.30	9.36 ± 0.16	7.39 ± 0.17	6.40± 0.18	2.47± 0.24	3.47± 0.12
	60 h	8.52 ± 1.21	4.23 ± 0.13	9.17± 0.09	7.33± 0.04	6.31± 0.04	2.32± 0.07	3.30± 0.06
25°Brix	0 h	11.45± 0.03	5.84± 0.02	10.77± 0.06	8.73± 0.02	8.35± 0.05	3.30± 0.02	4.00± 0.09
	20 h	10.40± 0.22	5.39 ± 0.28	10.29± 0.12	8.52 ± 0.18	7.52± 0.16	2.95± 0.06	3.77± 0.04
	40 h	9.71± 0.03	4.78 ± 0.02	9.45 ± 0.02	7.48± 0.04	6.47± 0.02	2.64± 0.03	3.52± 0.02
	60 h	8.52 ± 1.06	4.20 ± 0.09	9.15± 0.07	7.27± 0.01	6.27± 0.02	2.31 ± 0.06	3.35± 0.06
Temperature 40°C								
18°Brix	0 h	11.00±0.04	5.87±0.09	10.95±0.01	9.15±0.00	8.30±0.01	3.40±0.00	4.06±0.01
	20 h	10.32± 0.03	5.33 ± 0.04	10.22± 0.04	8.34± 0.05	7.34± 0.05	2.89 ± 0.04	3.79± 0.05
	40 h	9.73 ± 0.04	4.82 ± 0.03	9.44± 0.03	7.47± 0.03	6.51± 0.02	2.66± 0.02	3.56± 0.01
	60 h	9.31 ± 0.03	4.27 ± 0.01	9.23± 0.02	7.37± 0.06	6.37± 0.06	2.32± 0.03	3.37± 0.07
22°Brix	0 h	11.30± 0.03	5.66± 0.07	10.60± 0.03	8.76± 0.05	8.32± 0.05	3.25± 0.03	3.95± 0.00
	20 h	10.27± 0.02	5.23 ± 0.03	10.20± 0.03	8.37± 0.03	7.40± 0.03	2.93 ± 0.00	3.73± 0.02
	40 h	9.52 ± 0.23	4.65 ± 0.34	9.40± 0.11	7.41± 0.10	6.77± 0.45	2.57 ± 0.19	3.46± 0.08
	60 h	9.31± 0.05	4.30 ± 0.05	9.28± 0.01	7.30± 0.05	6.64± 0.57	2.36± 0.04	3.42± 0.04
25°Brix	0 h	11.45± 0.03	5.84± 0.02	10.77± 0.06	8.73± 0.02	8.35± 0.05	3.30± 0.02	4.00± 0.09
	20 h	10.32± 0.04	5.33 ± 0.06	10.24± 0.05	8.35 ± 0.03	7.37± 0.05	2.88± 0.06	3.77± 0.10
	40 h	9.73± 0.02	4.81 ± 0.04	9.44± 0.02	7.51± 0.02	6.53± 0.05	2.66 ± 0.02	3.55± 0.02
	60 h	9.32± 0.05	4.30 ± 0.03	9.28± 0.00	7.36 ± 0.08	6.34± 0.03	2.38 ± 0.06	3.42± 0.04

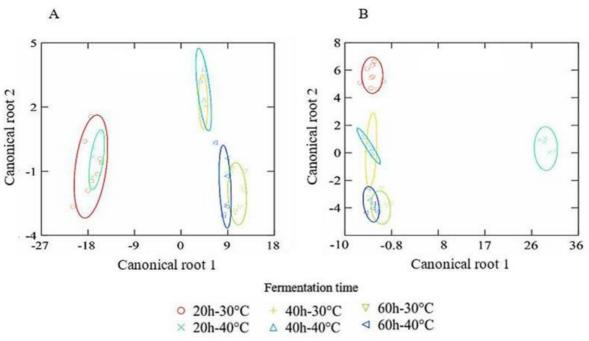
In the fermentative processes the main compounds assimilated by the yeasts are the sources of carbon and nitrogen, which alter the metabolic flow of these microorganisms. In this study we were able to quantify the amino acids serine, threonine, alanine, valine, methionine, isoleucine and tryptophan present in must, among them the tryptophan stands out acting directly on the stress responses to high concentrations of substrates and tolerance to ethanol, constituting an important amino acid to be consumed by the yeasts. Proline has protective function to thermal and oxidative stress (BUTZKE and PARK, 2011). The free amino acids and ammonia provide most of the nitrogen source necessary for fermentation, however, the amount of free amino acids in must can vary depending on the sugarcane, time of maturation, harvest and age of the sugarcane.

The presence of free amino acids in the fermentative midst provides the yeast with less synthesis of these compounds, effectively contributing in cell viability resulting in greater fermentative efficiency (GUTIÉRREZ-RIVERA *et al*., 2015). The same yeast may have different fermentative performances, in relation to the composition of the substrate during the fermentation process (HERNÁNDEZ-CARBAJAL *et al*., 2013). Studies with must regarding the assimilation of carbon and nitrogen sources by yeasts, in alternating temperature ranges and substrate concentration, are necessary not only to understand the physiology and biochemistry during the fermentation process but also to differentiate these microorganisms (CARRILLO *et al*., 2012; WANG *et al*., 2012).

Among the biotechnological processes, fermentation has been reported as an important industrial process in which the yeast *Saccharomyces cerevisiae* has been used, an agent responsible for the production of breads, beverages and ethanol (PITT and HOCKING 2009). In industrial processes, several methods of monitoring are applied aimed at productivity. Similarly, different yeast strains can be applied in different industrial processes, due to their physiological characteristics in relation to biotechnological processes.

The data showed that there were similarities in the values of concentrations of amino acids in 3 independent experiments evaluated by mean and standard deviation. Therefore, to assess whether the concentrations of amino acids were affected by temperature and fermentation time for each of the yeast strains analyzed a discriminant

analysis was applied (Figure 1). For the strain Catanduva-1 the discriminant analysis showed significant differences in the concentration of amino acids over time of fermentation (Wilks' lambda = 0.000; F = 53.028; p <= 0.0000), with significant separation into groups. Notably the variable temperature was not a determining factor, except for the time of 20 hours of fermentation, because there was a separation of the groups. The first canonical root explained 90.7 % of the groups separation and the second 0.9 % and the significant amino acids for the separation were valine, methionine and serine (Figure 1). Similar behavior has occurred for the Red Star strain (Wilks' lambda = 0.001; F = 41.936; p<= 0.0000), and the results showed significant difference once the ellipses of the dispersion diagram were separated according to the time of fermentation; in no time the temperature affected the performance of the amino acids in this strain of yeast. The first canonical root explained 97 % of separation and the second 0.2 %; the concentration of the following amino acids were responsible for this separation: alanine, threonine and tryptophan.

Figure 1 – Dispersion diagram of discriminant analyses showing the two canonicals roots of differentiation between fermentation times and temperatures in relation to the assimilation of the nitrogen sources of yeasts Red Star (A) and Catanduva-1(B), employing the concentrations of amino acids.

Source: Authors (2020).

At the beginning of fermentation of grape must, wine yeasts use the nitrogen of ammonia salts for growth, and subsequently nitrogen of free amino acids. Among these, particularly, arginine, glutamic acid, glutamine, aspartic acid, asparagine, threonine and serine, are assimilated (KURTZMAN *et al*., 2015; PEREIRA *et al*., 2015). Thus, the biosynthesis of amino acids have important function such as tolerance to ethanol and cell viability rate according to Zhao and Bai (2009).

Studies on beer must, aiming to assess the interference of the free amino acid composition when supplemented with three commercial proteases (Neutrase, Flavorzyme and Protamex), and monitor the assimilation of free amino acids during the fermentation used the yeast Saccharomyces pastorianus. The data showed that the must supplemented with proteases affected the fermentation performance of the yeast, and the proteases Neutrase and Protamex propitiated the largest ethanol production and formation of volatile compounds. However the different processes of fermentation provided differente profiles of assimilation of free amino acids, yeasts of high fermentation used leucine, arginine, phenylalanine, asparagine and valine, in normal fermentation were used lysine, leucine, arginine and histidine (MORENO- ARRIBAS and POLO, 2009).

In must of winery supplemented with 20 amino acids and testing wild yeast strains (W16, W34 and W35) and commercial (C5 and C11), obtained as a result, employing High Performance Liquid Chromatography (HPLC), that the commercial yeasts presented higher consumption of amino acids in relation to the wild (MORENO-ARRIBAS and POLO, 2009). In natural environments, the yeasts find a great diversity of sources of ammonia nitrogen, proline, arginine and nitrates, among others, which can be used for their metabolism and maintenance of cell integrity (LEI *et al*., 2013; SIMANCAS *et al*., 2015).

4. CONCLUSIONS

Analyzing the profile of assimilation of amino acids present in must based on sugarcane juice by *Saccharomyces cerevisiae* under fermentative stress, there were differences in relation to the concentrations of the amino acids. According to the discriminant analysis significant differences occurred in function of the fermentation time, except for the time of 20 hours of fermentation.

ACKNOWLEDGMENT

Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT), Financiadora de Inovação e Pesquisas (FINEP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (311975/2018-6 CALC); Programa Institucional de Bolsas aos Alunos de Pós-Graduação (PIBAP) da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código 001.

REFERENCES

AZHAR, S. H. M.; ABDULLA, R.; JAMBO, S. A.; MARBAWI, H.; GANSAU, J. A.; FAIK, A. A. M.; RODRIGUES, K. F. Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. **Biochemistry and Biophysics Reports,** (10):52-61, 2017.

BELLIDO, C.; BENITO, G. G.; COCA, M.; LUCAS, S.; CUBERO, M. T. G. Influence of aeration on bioethanol production from ozonized wheat straw hydrolysates using *Pichia stipites*. **Bioresource Technology,** (133):51-58, 2013.

BUTZKE, C. E.; PARK, S. K. Impact of Fermentation Rate Changes on Potential Hydrogen Sulfide Concentrations in Wine. **Journal Microbiol Biotechnol**, 21:519-524, 2011.

CARRILLO, E. P.; SALDIVAR, S. O. S.; HERNANDEZ, C. C.; CALLEJAS, M. L. C. Addition of protease during starch liquefaction affects free amino nitrogen, fusel alcohols and ethanol production of fermented maize and whole and decorticated sorghum mashes. **Biochemical Engineering Journal**, (67):1-9, 2012.

DELLA-BIANCA, B. E.; GOMBERT, A. K. Stress tolerance and growth physiology of yeast strains from the Brazilian fuel ethanol industry. **Antonie van Leeuwenhoek**, 104:1083-1095, 2013.

GUTIÉRREZ-RIVERA, B.; ORTIZ-MUÑIZ, B.; GÓMEZ-RODRÍGUEZ, J.; CÁRDENASCÁGAL, A.; GONZÁLEZ, J. M. D.; AGUILAR-USCANGA, M. G. Bioethanol production from hydrolyzed sugarcane bagasse supplemented with molasses “B” in a mixed yeast culture. **Renewable Energy**, (74):399-405, 2015.

HARI, S.; JEBITTA, R.; SIVARAMAN, K. Production and characterization of sugar cane juice powder. **Journal of Sugarcane Research**, 3(1):20-34, 2013.

HERNÁNDEZ-CARBAJAL, G.; RUTIAGA-QUIÑONES, O. M.; PÉREZ-SILVA, A.; SAUCEDO-CASTAÑEDA, G.; MEDEIROS, A.; SOCCOL, C. R.; SOTO-CRUZ, N. Ó. Screening of native yeast from Agave duranguensis fermentation for isoamyl acetate production. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 56(3), 357-363, 2013.

ISMAIL, K. S. K.; SAKAMOTO, T.; HASUNUMA, T.; ZHAO, X. Q.; KONDO, A. Zinc, magnesium, and calcium ion supplementation confers tolerance to acetic acid stress in industrial *Saccharomyces cerevisiae* utilizing xylose. **Biotechnology Journal**, (9):1519-1525, 2014.

KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, T. (Eds). The yeasts: a taxonomic study. Amsterdam: Elsevier, ed, 5, 2011.

KURTZMAN, C. P.; MATEO, R. Q.; KOLECKA, A.; THEELEN, B.; ROBERT, V.; BOEKHOUT, T. Advances in yeast systematics and phylogeny and their use as predictors of biotechnologically important metabolic pathways. **FEMS Yeast Research**, (15):1-17, 2015.

LEI, H.; ZHENG, L.; WANG, C.; ZHAO, H. Effects of worts treated with proteases on the assimilation of free amino acids and fermentation performance of lager yeast. **International Journal of Food Microbiology**, (161):76-83, 2013.

MA, M.; LIU, Z. L. Mechanisms of ethanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied Microbiol Biotechnol**, 87:829-845, 2010.

MARQUES, M. O.; MUTTON, M. A.; NOGUEIRA, T. A. R.; TASSO JÚNIOR, L. C.; NOGUEIRA, G. A.; BERNARDI, J. H. Tecnologias na agroindústria canavieira. Jaboticabal: FCAV, 9-16 2008.

MORENO-ARRIBAS, M. V.; POLO, M. C. Special wines production. **Wine Chemistry and Biochemistry**. Madrid: Springered. Springer-Verlag, Nova Iorque 2009, 59p.

NOGUEIRA, L. A. H.; CAPAZ, R. S. Biofuels in Brazil: Evolution, achievements and perspectives on food security. **Global Food Security**, (2):117-125, 2013.
PEREIRA, A. F.; SILVA, P. H. A.; PINHEIRO, P. F.; BRAGA, L. M.; BRAGA PINHEIRO, C. A. Adição de fontes de nitrogênio e de duas linhagens de levedura na fermentação alcoólica para produção de cachaça. **Revista de Engenharia Química e Química**, (1):45-59, 2015.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. Fungi and Food Spoilage. 3 ed. Springer Dordrecht, Heidelberg, London, New York, 2009.

SANTOS, E. F. S.; SCHAUTZ, L. C. A.; CARDOSO, C. A. L.; ERNANDES, J. R.; BATISTOTE, M. O efeito da complexidade estrutural da fonte de carbono e nitrogênio no desempenho fermentativo de leveduras indústrias. **Ciência e Natura**, 2:09-014, 2013.

SILVA, R. O. D.; CEREDA, M. P.; GOMES, E.; MARTINS, G. M.; PAGNOCCA, F. C.; SILVA, R. D. Selection of xilose-fermenting yeast strains. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 59, 2016.

SIMANCAS, N. B.; GIESE, E.; ARÉVALO-VILLENA, M.; ÚBEDA, J.; BRIONES, A. Amino acid uptake by wild and commercial yeasts in single fermentations and co-fermentations. **Food Chemistry**, 127: 441-446, 2015.

SOUSA, J. L. U.; MONTEIRO, R. A. B. Fatores Interferentes na Fermentação Alcoólica para a Produção de Etanol. **FAZU em Revista**, 2:100-107, 2012.

TÁVORA, F. L. História e Economia dos Biocombustíveis no Brasil. Centro de Estudos da Consultoria do Senado. 2011; p. 89.

WANG, K.; MAO, Z.; ZHANG, C.; ZHANG, J.; ZHANG, H.; TANG, L. Influence of nitrogen sources on ethanol fermentation in an integrated ethanol–methane fermentation system. **Bioresource Technology**, (120):206-211, 2012.

ZABED, H.; SAHU, J. N.; BOYCE, A. N.; FARUQ, G. Fuel ethanol production from lignocellulosic biomass: An overview on feedstocks and technological approaches. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, (66):751-774, 2016.

ZHAO, X. Q.; BAI, F. W. Mechanisms of yeast stress tolerance and its manipulation for efficient fuel ethanol production. **Journal of Biotechnology**, (144):23-30, 2009.

CAPÍTULO 12

DIATOMÁCEAS COMO INDICADORAS DA QUALIDADE DA ÁGUA EM RIOS URBANOS.

Ana Clauda de Sousa da Silva
Engenheira Ambiental Instituição: Universidade do Estado do Pará.
Endereço: Rodovia PA 125 s/n, bairro Angelim, Paragominas, Pará, Brasil.
E-mail: acss.1309@gmail.com

Nayara Do Socorro Nascimento Farias
Engenheira Ambiental Instituição: Universidade do Estado do Pará,
Endereço: Rodovia PA 125, s/n, bairro Angelim, Paragominas, Pará, Brasil.
E-mail: nayarafarias@outlook.com

Antônio Pereira Júnio
Mestre em Ciências Ambientais
Instituição: Universidade do Estado do Pará, Laboratório de Qualidade Ambiental (LQA), Endereço: Rodovia PA 125, s/n, bairro Angelim Pará, Brasil.
E-mail: antonio.junior@uepa.br

RESUMO: A contaminação dos ecossistemas aquáticos oriundos de esgotos domésticos e industrial é um dos maiores desafios para o Brasil nos últimos anos, pois tem ocasionado a diminuição da qualidade da água de rios. O objetivo dessa pesquisa foi promover a análise quanti-qualitativa a partir da presença/ausência das diatomáceas como indicadoras da qualidade da agua associada aos parâmetros físico-químico ou ausência dessas algas na água dos rios Prainha e Uraim, no município de Paragominas – PA, bairro Promissão, loteamento Promissão I, nas ruas Bujaru e Durval Nolasco. As amostragens ocorreram nos dias 13 de maio, período chuvoso, e no dia 13 de setembro, período seco, ambas no ano de 2018, sendo três pontos no rio Prainha e três no rio Uraim, todas a 20 cm de profundidade. O método utilizado foi o dedutivo, a pesquisa apresenta natureza aplicada com abordagem quantiqualitativa e procedimento experimental. A análise dos dados adquiridos indicou que há presença de um total 453 indivíduos pertencentes a 11 gêneros. Dentre estes, 9 gêneros foram encontrados no rio Prainha e 7 no rio Uraim. A riqueza de gêneros nos meses estudados indicou uma tendência de variação quando comparados os valores entre os períodos chuvoso e seco dos rios Prainha (S=5 para S=7) e Uraim (S=4 para S= 6). Em relação diversidade, esta foi maior no período seco em ambos os rios, e a única espécie abundante no rio Prainha, em ambos os períodos de coleta, foi a *Navicula* sp, no rio Uraim não houve espécie abundante. Dos parâmetros físico-químico e ambientais analisados, somente o pH e fosforo total não estão em conformidade com o valor estabelecido pela resolução. A presença ou ausência das diatomáceas em um corpo hídrico está diretamente relacionada com dos parâmetros físico-químico e ambientais, O gênero *Pinnularia* sp, por exemplo, tem boa afinidade com baixos valores de pH, assim como, a *Gomphonema* sp só está pressente em ambientes onde a quantidade de nutrientes é alta, principalmente fosforo total e nitrogênio. Logo, as diatomáceas, assim como os parâmetros físico-químicos, em

situações de alteração da característica natural de um corpo hídrico, também são bastantes sensíveis e capazes de indicar a qualidade da água, inclusive de rios urbanos.

PALAVRAS-CHAVE: gênero; parâmetros de qualidade; período.

ABSTRACT: The contamination of aquatic ecosystems from domestic and industrial sewage is one of the greatest challenges for Brazil in recent years, as it has caused a decrease in the quality of river water. The objective of this research was to promote quantitative and qualitative analysis based on the presence/absence of diatoms as indicators of the water quality associated with the physical-chemical parameters or the absence of these algae in the water of the rivers Prainha and Uraim, in the municipality of Paragominas - PA, Promissão neighborhood, Promissão I subdivision, in Bujaru and Durval Nolasco streets. The samples occurred on May 13, rainy season, and September 13, dry season, both in the year 2018, being three points in the Prainha River and three in the Uraim River, all 20 cm deep. The method used was the deductive, the research has nature applied with quantiqualitative approach and experimental procedure. The analysis of the acquired data indicated the presence of a total of 453 individuals belonging to 11 genders. Among these, 9 genera were found in Prainha River and 7 in Uraim River. The richness of genders in the studied months indicated a tendency of variation when comparing the values between the rainy and dry periods of the rivers Prainha (S=5 for S=7) and Uraim (S=4 for S=6). In relation to diversity, this was greater in the dry period in both rivers, and the only abundant species in the Prainha River, in both collection periods, was Navicula sp, in the Uraim River there was no abundant species. Of the physical-chemical and environmental parameters analyzed, only the pH and total phosphorus are not in accordance with the value established by the resolution. The presence or absence of diatoms in a water body is directly related to the physical-chemical and environmental parameters, The genus Pinnularia sp, for example, has good affinity with low pH values, as well as, Gomphonema sp is only present in environments where the amount of nutrients is high, mainly total phosphorus and nitrogen. Therefore, diatoms, as well as physical-chemical parameters, in situations of alteration of the natural characteristic of a water body, are also quite sensitive and able to indicate the quality of water, including urban rivers.

KEYWORDS: Period, gender, parameters.

1. INTRODUÇÃO

A poluição de águas superficiais, principalmente no que concerne à rios urbanos, tem se caracterizado por inúmeros danos que potencialmente afetam as águas superficiais, nota-se que estas estão sujeitas a uma complexa e variada gama de impactos e riscos ambientais, com papel fundamental desempenhado pela ação do homem. Caso sejam incluídas as águas oceânicas, seria obtido um quadro ainda mais grave para o planeta (GUEDES, 2011).

Outro fator agravante é o crescimento e a concentração populacional em área urbana (n = 86 %). Isso provoca poluição dos rios urbanos que ganha uma nova função: fonte de doenças diversas. Além disso, a deficiência no sanemanto básico o que eleva os níveis de poluição desses corpor hídricos (GARCIAS et al., 2020).

Atualmente, um dos principais desafios para os municípios brasileiros, é a gestão da qualidade da água para o abastecimento público. As principais fontes de degradação dos recursos de água doce, no Brasil, são o esgoto doméstico e industrial, onde, são lançados com pouco ou nenhum tratamento, o que resulta na degradação ambiental e sanitária dos rios (MENEZES et al., 2016).

Consequentemente, sobre as metodologias de avaliação da qualidade da água, pesquisadores de todo o mundo (BERE; TUNDISI, 2011; SCHUCH et al., 2012), argumentam que técnicas tradicionais relacionadas em características físicas, químicas e bacteriológicas não são suficientes para atender seus múltiplos usos, pois são particularmente insuficientes na avaliação de estética, recriação e condições ambientais ecológicas. Portanto, em uma análise integrada da qualidade da água, devem ser considerados os aspectos biológicos do sistema, além das metodologias tradicionais (HEINRICH, 2014).

Não apenas, as análises físicas e químicas fornecem informações sobre as condições da água no momento em que as medições são feitas, as análises biológicas podem também podem detectar possíveis alterações na qualidade da água, bem como as tendências ao longo do tempo que se refletem nas mudanças de habitat ou na natureza dos organismos aquáticos (PEREIRA et al., 2012). O estudo de comunidades bióticas, distribuição, abundância de espécies em determinadas áreas de amostragem, são fatores importantes a serem considerados para indicar a qualidade da água (CHELLAPPA et al., 2009).

Nesse contexto, as diferentes comunidades biológicas têm sido usadas para avaliar e monitorar a qualidade da água doce. Entre eles, as diatomáceas são reconhecidas mundialmente como indicadores de poluição orgânica e eutrofização (RANGEL et al., 2017). Além de possuírem ciclo de vida curto e diversidade ao longo de todo o corpo hídrico, apresentam também sensibilidade a alterações e distúrbios ambientais nas características físico, química e biológica e, por isso, respondem rapidamente à estas condições O monitoramento de comunidades biológicas específicas podem funcionar como importante ferramenta para sinalizar alterações das condições limnológicas e hidrológicas (ALMEIDA; BICUDO, 2014; MORESCO et al., 2011).

Ademais, as diatomáceas são consideradas as mais bem-sucedidas espécies como indicadores de qualidade da água, por estar associadas à resposta a mudanças ambientais sutis, tanto por sua sensibilidade e tolerância. Isso porque a variação destas comunidades de diatomáceas é manifestada espacialmente e temporalmente, baseados no clima, configurações geológicas e condições geomorfológicas, além dos fatores físico-químico da água (NARDELI et al*.,* 2016; RODRIGUES et al., 2015; SALOMANI et al., 2011).

Junte-se a esses aspectos, o fato de que elas apresentam vantagens como: fazer parte do ciclo da energia em quase todos os ecossistemas lóticos que dispõem de grande parte dos alimentos e, portanto, mantêm os níveis tróficos mais elevados, para o estabelecimento do equilíbrio ecológico. Ainda mais, elas purificam as águas, absorvendo muitas impurezas, como nutrientes e metais pesados. E, por fim, elas respondem rapidamente à degradação da qualidade da água, muitas vezes mudando tanto na composição taxonômica quanto na biomassa, onde até mesmo uma leve contaminação ocorre (SANTANA et al., 2016).

Outro fator que polui as águas está relacionado com os padrões de uso do solo porque isso têm importante influência sobre a qualidade da água, superficial e subterrânea, e os ecossistemas aquáticos dentro de uma bacia hidrográfica, tornam-se vulneráveis a transformações nos ecossistemas (SANTOS et al., 2018).

Essa ocupação tem sido indicada como a gênese da contaminação dos ecossistemas aquáticos e, geralmente, antropogênica. Isso constitui uma das grandes preocupações ecológicas dos últimos anos. Particularmente, a má gestão do uso do

solo, aliada ao crescimento da população, assim como outros fatores, tem provocado o decréscimo da qualidade da água de rios, lagos e reservatórios (MORESCO et al., 2015).

A gestão inadequada do uso e ocupação do solo e a poluição hídrica de rios urbanos compromete a renda de pescadores que sobrevivem do pescado advindo do rio, a nível de curso médio e próximo a foz porque a qualidade da carne do pescado declina em relação a poluição urbana. Consequentemente, determina uma diminuição na qualidade nutriciconal e financeira dessas comunidades (MARINHO; FARIA JÚNIOR, 2020).

Tal decréscimo é em consequência dos diferentes processos que acontecem em uma bacia, e que dependem das características do local onde ela se insere como, por exemplo, a flora, fauna, relevo, uso e ocupação do solo, e os fenômenos meteorológicos, interagem entre si e condicionam a resposta hidrológica na bacia (ALVARENGA et al., 2012; SOUTO et al., 2011).

Todos eles são importantes para o estudo acerca das diatomáceas como indicadoras da qualidade da água, bem como incrementa a relevância dele porque incrementa a relevância dessa pesquisa, pois ela irá gerar dados que poderão ser utilizados em estudos futuros para a melhoria quanto ao monitoramento da qualidade da água.

Por isso o objetivo dessa pesquisa foi a avaliação quantitativa e qualitativa das águas de dois ambientes lóticos urbanos, a partir da presença/ausência de diatomáceas, bem como as caracterizações físico-química como pH, temperatura, turbidez, sólidos totais, DBO5, fósforo total, nitrogênio total, oxigênio dissolvido e coliformes termotolerantes (Resolução CONAMA 357/05) para confirmar o estado desses corpos hídricos em associação com as diatomáceas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. FISIOGRAFIA DO MUNICÍPIO

O município de Paragominas (Figura 1), localizado na parte central da mesorregião do Nordeste Paraense, situada entre os paralelos de 2º 0’ 38” e 3º 0’ 40” de latitude sul e os meridianos de 46º 0’ 27” e 48º 0’ 5” de longitude oeste de

Greenwich, com uma população estimada de cerca de 107.010 habitantes em 2015 (IBGE, 2010).

Figura 1 – Mapa político com a localização da área de estudo no município de Paragominas – PA.

Elaborado por Balbino, M. V. (2018).

O município é caracterizado por diversas agregações de solos, entre estes, Latossolo amarelo, textura muito argilosa, Latossolo amarelo, textura argilosa e Concrecionários Lateríticos. Ele apresenta um clima quente e úmido, a temperatura média anual é de 26º C, e precipitação média anual de 1.800 milímetros sua umidade relativa do ar média é de 81 %. Paragominas apresenta um período mais chuvoso entre dezembro a maio, e outro mais seco entre junho a novembro (IDESP, 2014; INMET, 2013).

Quanto à rede de drenagem, ela estende-se por todo o município e tem como principais bacias: do Capim e rio Gurupi e que se ramificam por 54 % e 46 % respectivamente da área de 19.342 km² do município de Paragominas. Em relação as atividades locais, base do Produto Interno Bruto (PIB) e da oferta de empregos

para o município a criação de gado, extração madeireira, fabricação de carvão, lavoura e extração da bauxita, são os fatores que movem estes setores (SANTOS et al., 2017).

2.2 MÉTODOS

Foram associados métodos cinco métodos sintetizados em pesquisas dessa natureza (Quadro 1).

Quadro 1 – Literaturas utilizadas para a composição da metodologia.

Caracteristicas do método	**Autor (es/as) e ano de publicação**
Cálculo da Abundância e dominância	Lobo e Leighton, 1986.
Determinação taxonômica dos Gêneros	Almeida e Bicudo, 2014; Bertolli, Tremarin e Ludwing, 2010; Laux, 2011; Moresco *et al.*,2011.
Método[1]	Matias-Pereira, 2016: premissao verdadeira e conclusao verdadeira.
Tipo de pesquisa[2]	Silveira e Córdova, 2009: abrangência e natureza; pesquisa exploratória

[1]Premissa: a presença/ausência das diatomáceas podem ser indicaras da qualidade da água; [2]Abrangência quantitativa e qualitativa e natureza aplicada; devido a escassez de informações quanto a isso em Paragominas (Ex: escassez de estudos sobre a qualidade da água dos mesmos com o uso de diatomáceas; preservação e reaproveitamento de recursos hídricos). Fonte: autores (2018).

Este método foi complementado com levantamento de dados documentais, com recorte temporal de 10 anos (2009 a 2018). Por apresentarem estudos recentes, que abordam a temática pesquisada. Vale ressaltar que se excluem desse recorte, a Resolução CONAMA 357/05. Para a elaboração dos gráficos e do mapa localização, bem como para o tratamento dos dados estatísticos e o cálculo de diversidades de espécies foram usadas ferramentas e planilhas eletrônicas contidas nos *softwares* ArcGIS 10.1 (ESRI, 2013), Microsoft Excel®, versão 2010 (MICROSOFT EXCEL OFFICE, 2016), Origin 9.0 (ORIGIN LAB, 2013) e DivEs 4.0 (RODRIGUES, 2018).

2.3. ÁREA DE ESTUDO

A área em estudo está localizada na zona urbana do município. A bacia hidrográfica do rio Uraim apresenta uma área de 4.9 km², e ocupa uma área que corresponde a 21,75 % do município de Paragominas. Este rio, que possui vazão

média anual de 268.423,35 m³/h, é essencial para os serviços de saneamento da cidade, pois abriga o ponto de captação de água para abastecimento público. Ele é caracterizado como tributário de quinta ordem, da margem esquerda, do rio Gurupi (SANEPAR, 2014).

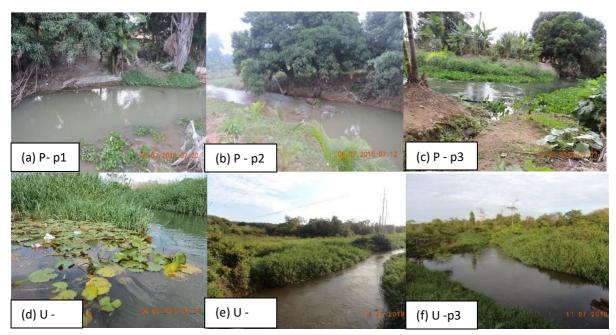
Em relação ao rio Prainha, também chamado de igarapé Paragominas, trata-se se um rio que corta a área urbana do município e junto com o rio Uraim compõe a microbacia hidrográfica com o mesmo nome desse rio. Esse último, é de extrema importância para o município de Paragominas, visto que ele auxilia no desenvolvimento dos serviços realizados de saneamento na cidade porque possibilita a retirada da água para o abastecimento público e o desaguamento dos efluentes tratados nas estações de origem domiciliar (PINTO et al., 2009; SANEPAR, 2014).

2.4. AMOSTRAGENS

No **Rio Prainha**, foram escolhidos três pontos para a coleta da amostra de água e diatomáceas, distribuído em 66 metros. Esse trecho do rio perpassa pela rua Bujaru, Bairro Promissão, Loteamento Promissão I, local com alta densidade populacional, sem saneamento básico, a única função atribuída a este rio é o despejo de esgoto doméstico.

Para a amostragem no **Rio Uraim**, foram definidos três pontos, distribuído em 96 metros. Esse trecho perpassa a rua Durval Nolasco, Bairro Promissão, Loteamento I, local de baixa densidade populacional, ausência de saneamento básico, as funções exercidas pelo corpo hídrico: balneabilidade, pesca, usos domésticos e comerciais como, por exemplo, lavagem de veículos automotores.

Nos seis pontos de amostragem, segue-se a regularidade da margem direita dos rios, no sentido jusante para montante, portanto, contracorrente, em obediência ao Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras (ANA, 2011). Os pontos planimétricos em função dos seis pontos de amostragens, três no rio Prainha: P –p1 (Figura 2a); P-p2 (Figura 2b); P-p3 (Figura 2c), e três no rio Uraim: U-p1 (Figura 2d); U-p2 (Figura 2e); U-p3 (Figura 2f).

Figura 2 - Distribuição dos pontos de coleta no sentido montante/jusante no rio Uraim e Prainha. Paragominas - PA.

Fonte: Autores (2018).

Com o uso do GPS, foram identificadas as posições planialtimétricas de cada um dos pontos de amostragem (Tabela 1).

Tabela 1 - Posicionamento planialtimétricos dos pontos de amostragem dos rios Prainha e Uraim. Paragominas - PA.

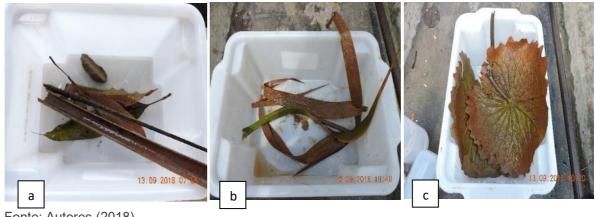
PONTOS	LATITUDE	LONGITUDE
P - P1	S 02° 58´ 40,0”	W 047° 21´ 09.6”
P - P2	S 02° 58´ 39,0”	W 047° 21´ 10,5”
P - P3	S 02° 58´ 38,6”	W 047° 21´ 11,2”
U - P1	S 02° 58´ 34,6”	W 047° 21´ 21,4”
U - P2	S 02° 58´ 35,1”	W 047° 21´ 22.6”
U - P3	S 02° 58´ 35,1”	W 047° 21´ 22.6”

Legendas: P- p1: Prainha Ponto 1; P - p2: Prainha Ponto 2; P - p3: Prainha Ponto 3; U - p1: Uraim Ponto 1; U - p2: Uraim Ponto 2; U - 3: Uraim Ponto 3. Fonte: autores (2018).

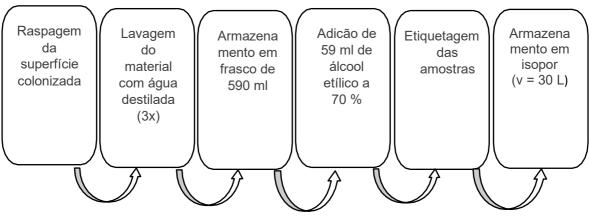
2.5. DIATOMÁCEAS

As coletas de diatomáceas epifíticas ocorreram no período chuvoso (maio) e no período seco (setembro), evitou-se a coleta logo após chuvas intensas com o objetivo de evitar perturbações na comunidade e alteração da turbidez. A técnica utilizada preconizada foi a do substrato grosseiro (LOBO et al., 2016), que

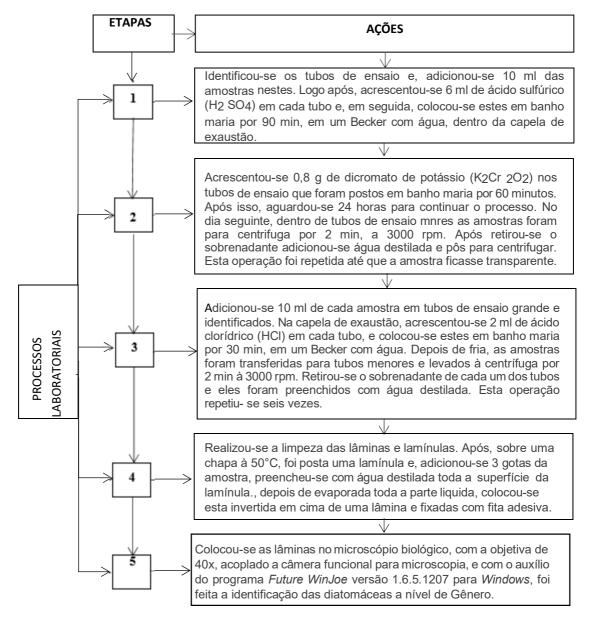
seleciona preferencialmente rochas ou outros materiais como galhos (Figura 3a), folhas longas (Figura 3b) e circulares (Figura 3c) que estejam cobertos com algas filamentosas que poderão gerar amostras compostas por uma mistura de diatomáceas.

Figura 3 - substratos grosseiros selecionados. Paragominas – PA.

Fonte: Autores (2018).

A retirada das diatomáceas dos substratos foram realizadas *in situ* (Figura 4), segundo o protocolo estabelecido pelo Guia ilustrado para sistemas lóticos subtropicais e temperados Brasileiros da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC (LOBO *et al*., 2016), com adaptações quanto a horários e características dos corpos hídricos, como ausência rochas em alguns pontos de coletas.

Figura 4 - Fluxograma das etapas de geração das amostras de diatomácea. Paragominas – PA.

Fonte: autores (2018).

Este Guia também serviu como base no tratamento laboratorial das amostras e o procedimento de identificação das diatomáceas (Figura 5).

Figura 5 - Fluxograma do processo laboratorial das amostras procedimento de identificação das diatomáceas. - Paragominas-PA.

Fonte: Autores (2018).

Para os cálculos acerca da dinãmica de populações foram utilizadas quatro Equações (Tabela 2).

Tabela 2 – Equações utilizadas para os cálculos de quatro variáveis da dinâmica populacional.

Análise para	Equações	Elementos componentes
Padrões de riqueza	$ED = S_{obs} + S1\left(\frac{f-1}{f}\right)$ (1)	S_{obs} = quantidade de gêneros observadas; *S1*= quantidade de gêneros que se encontra presente apenas em um agrupamento; *f* = quantidade de agrupamento que contém i^{ésima} de gêneros de um agrupamento.
Índice de Shanonn-Wiener	$H' = -\sum pi * log2\,(pi)$ (2)	*pi* = *ni/N*; *Ni* = abundância relativa de cada gênero na unidade amostral; *N* = abundância total
Equitabilidade J[1]	$J = \frac{H'}{H\,max'}$ (3)	*H'*= Índice de Shannon-Wiener; *Hmax'* = é dado pela expressão $Hmax' = \log s$; onde *s* é o número de gêneros amostrados.
Determinação da abundância relativa e dominância[2].	$\overline{Ar} = \frac{N}{n} * 100$ (4)	*Ar* = abundância[3] relativa expressa em percentagem (%); *n*= número de indivíduos de gêneros na amostra; *N*= número total de indivíduos

1 - Quando os valores estiverem próximos de zero ou próximos de um, indicará uma a Equitabilidade. 2 - Lobo e Leighton (1986). 3 - Esse foi aplicado porque não há como inventariar a comunidade inteira dos dois rios analisados. A escala para a abundância adotada (SOUSA *et al*., 2009) apresenta as seguintes qualificações e quantificações valores: *dominante* (> 70%), *abundante* (≤ 70% e > 40%), *pouco abundante* (≤ 40% e > 10%) e *rara* (≤ 10%). Fonte: autores (2018).

2.6. COLETA DA ÁGUA

As coletas das águas superficiais de água ocorreram no período chuvoso (maio) e no período seco (setembro), com seis amostras em cada período, a 20 cm de profundidade, o que totalizou doze amostras, em frascos de vidro (V = 590 mL) com tampa. A técnica utilizada para essa coleta seguiu o protocolo estabelecido pelo Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras, da Agência Nacional das Águas (ANA, 2011).

Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em caixas de isopor de 30 litros com gelo a 4 ºC para manutenção e impedir reações químicas negativas que alteram resultados (Ex.: decomposição orgânica). Em seguida, foram conduzidas ao laboratório analítico Torres para serem feitas a análise de nove parâmetros (Tabela 3), segundo o Manual Prático de Análise de Água da Fundação Nacional da Saúde (BRASIL, 2013).

Tabela 3 - Parâmetros analisados *in situ* e no laboratório. Paragominas –PA.

ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICO				
	PARÂMETROS	**METODOLOGIA**	**LOCAL**	**V.R**
	pH	Potenciômetro	1	6,0 a 9,0 mg/L
Físico	Temperatura	Termometria	1; 2	S.R
	Turbidez	Espectrofotometria	1;2.	< 100,0 Ut
	Sólidos Totais	Gravimetria	1	<1000,0 mg/L
Químico	DBO_5	Incubação por 5 dias	1	< 5,0 mg/L
	Fósforo Total	Espectrofotometria	1	< 0,1 mg/L
	Nitrogênio Total	Espectrofotometria	1	< 20,0 mg/L
	Oxigênio Dissolvido – OD	Winkler	1;2	>5,0mg/L
Mcb	C. T	Bioquímica reacional	1	<1000

Legendas: V.R – Valor de Referência; S.R – Sem Referência; C.T – Coliformes Termotolerantes; MCB – Microbiológico; 1 – Laboratório; 2 – *in situ* Fonte: autores (2018).

Quanto as mensurações para condutividade, intensidade luminosa velocidade do vento, profundidade e poder de oxirredução foram efetuadas *in situ* com o uso do Multiparâmetro. No tratamento dos dados, foram aplicados métodos de análises com base em fatores como a superação dos limites máximos e mínimos estabelecidos pela Resolução CONAMA 357 (BRASIL, 2005), para Classe de Águas II.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 PARÂMETROS BIÓTICOS

Os dados obtidos e analisados quanto as diatomáceas epifíticas que se desenvolveram em substratos naturais nos rios Prainha e Uraim nos períodos chuvoso e seco foram representados por um total 453 indivíduos pertencentes a 11 gêneros. Dentre estes, nove gêneros foram encontrados no rio Prainha (Figura 6) e sete no rio Uraim (Figura 7).

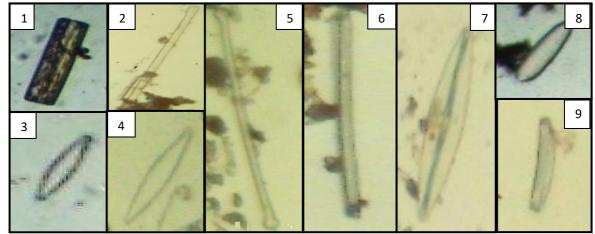
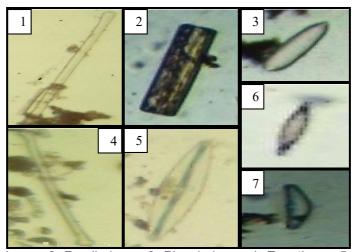
Figura 6 – Diatomáceas identificadas, quanto ao Gênero. Rio Prainha. Paragominas – PA.

Legendas: 1- *Fragilaria* sp., 2 – *Aulacoseira* sp., *3 – Nitzschia* sp., *4 – Gomphonema* sp., 5 – *Eunotia* sp., 6- *Ulnaria* sp., 7 – *Navicula* sp., 8 – *Pinnularia* sp., 9 – *Encyonema* sp. Fonte: autores (2018).

Figura 7 – Diatomáceas identificadas, quanto ao Gênero. Rio Uraim. Paragominas – PA.

Legendas: 1: *Aulacoseira* sp., 2: *Fragilaria* sp., 3*: Pinnularia* sp., 4: *Eunotia* sp., 5: *Navicula* sp., 6: *Ctenophora* sp., 7: *Cymbella* sp. Fonte: autores (2018).

Comparou-se a ocorrência dos gêneros nos períodos amostrados (chuvoso e seco), nos dois rios, objeto dessa pesquisa, e a análise dos dados indicou que o Gênero *Aulacoeira* ocorreu nos dois períodos e nos dois corpos hídricos, todavia, os Gêneros *Ctenophora e Cymbelle* somente no período seco, e *Ghomphonema* apenas no período chuvoso e somente no rio Uraim (Tabela 4).

Tabela 4 - Ocorrência dos gêneros encontrados nos rios Prainha e Uraim nos dois períodos amostrados.

	Período chuvoso		**Período seco**	
	Prainha	**Uraim**	**Prainha**	**Uraim**
Gêneros	***n* (%)**	***n* (%)**	***n* (%)**	***n* (%)**
Aulacoseira	9.5	26.1	31.7	39.5
Ctenophora	0.0	0.0	0.0	7.3
Cymbelle	0.0	0.0	0.0	4.1
Eunotia	0.0	0.0	6.5	4.8
Encynoma	6.3	13,0	3.2	0.8
Fragilaria	25.4	21.7	4.1	15,3
Ghomphonema	0.0	0.0	0,5	0.0
Navicula	57.1	34.9	41.6	28.2
Nitzschia	1.7	0.0	7.5	0.0
Pinnularia	0.0.	4.3	2.1	0.0
Ulnaria	0.0	0.0	2.8	0.0

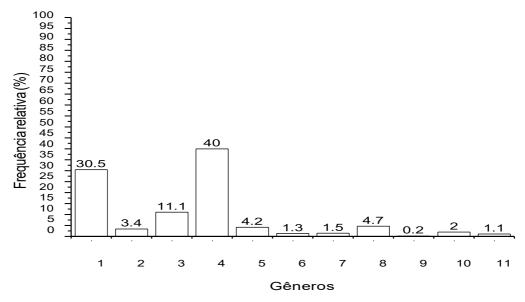
Fonte: Autores (2018).

Quanto a distribuição da frequência relativa desses gêneros nos rios Prainha e Uraim, objeto desse estudo, a distribuição dos gêneros encontrados nos rios Prainha e Uraim no período chuvoso, os gêneros mais frequentes em ambos os rios foram a *Navicula* sp (diatomáceo móvel) que não possui pedúnculos de adesão e são facilmente removidas por distúrbios que ocorrem na água.

Na pesquisa realizada em Paraná – PR, por Moresco e Rodrigues (2014), a *Navícula* sp foi preconizada por se tratar de uma espécie indicadora do crescimento urbano associada a condições de poluição orgânica. Seguida de *Aulacoseira* sp e *Fragilaria* sp (diatomáceas pedunculadas) que se aderem ao substrato com auxílio de pedúnculo de mucilagem, e são altamente sensíveis a ausência de nutrientes.

No estudo realizado em Curitiba – PR, por Santos et al. (2017), os autores concluiram que, caso haja a diminuição de nutrientes em um recurso hídrico, a comunidade de diatomáceas de alto perfil dentre elas (*Aulacoseira* sp *e Fragilaria* sp), tende a reduzir, e a de baixo perfil, ou seja, mais sensíveis ao distúrbio físico, se elevar. No estudo efetuado em Paragominas, no período chuvoso, em ambos os rios se verificou que as diatomáceas de alto perfil e móvel, foram as mais frequentes.

No que se refere a representatividade total de diatomáceas por gênero identificados nos dois rios, os dados obtidos indicaram uma tendência a variações (Figura 8).

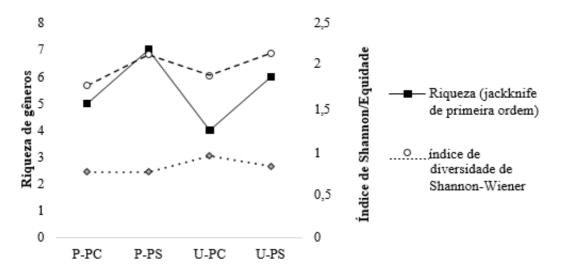
Figura 8 - representatividade total de diatomáceas por gênero identificados nos dois rios. Paragominas - PA

Legendas: 1- *Aulacoseira* sp.; 2- *Encyonema* sp.; 3- *Fragilaria* sp.; 4- *Navícula* sp.; 5- *Nitzschia sp.*; 6- *Pinnularia* sp; 7- *Ctenophora* sp.; 8- *Cymbella* sp.; 9- *Eunotia* sp.; 10- *Gomphonema* sp.; 11- *Ulnaria* sp.
Fonte: autores (2018).

Essa variação pode estar relacionada ao fato que alguns gêneros são mais sensíveis às mudanças ambientais e outros mais tolerantes. Para Pereira Júnior et al. (2018), cada diatomácea tem limites de tolerância diferentes a mudanças ambientais normalmente associadas a condutividade, temperatura, concentração de nutrientes e contaminantes (orgânicos e inorgânicos).

Com relação a riqueza estimada de espécies (Jackknife de primeira ordem) a análise dos dados obtidos indicou uma tendência de variação quando comparados os valores entre os períodos chuvoso e seco dos rios Prainha (S=5 para S=7) e Uraim (S=4 para S= 6), onde a tendência do maior valor para a riqueza de espécies, ocorreu em ambos os rios no período seco. Rodrigues et al. (2015) realizaram pesquisa sobre este mesmo tema, no município de São Luís – MA, e os dados que eles obtiveram, indicaram que, no período seco, um dos fatores que influenciam sobre a tendência de maior valor de riqueza de gêneros foi a pouca turbulência e maior transparência das

águas. Nos dois rios objetos da pesquisa em Paragominas, corroborou com o descrito em São Luis.

Quanto aos valores do índice de diversidade de Shanon-Wiener nos pontos de amostragem dos rios, houve uma tendência de diminuição da variação entre os períodos de coleta. Onde a diversidade de espécies (H') no rio Prainha variou (H' = 1,77 para H' = 2,13) do período chuvoso para o seco; e no Uraim (H' = 1,89 para H' = 2,15). Logo, apesar de pouca variação média, a maior diversidade também corresponde ao período seco em ambos os rios (Figura 9).

Figura 9 - Valores O Índice de Shanon-Wiener (H') dos gêneros, índice de diversidade e Equitabilidade J (EJ) das diatomáceas nos dois períodos de estudo em ambos os rios. Paragominas-PA.

Legendas: P-PC: Prainha Período Chuvoso; P-PS: Prainha Período Seco; U-PC: Uraim Período Chuvoso; U- PS: Uraim Período Seco. Fonte: autores (2018).

O índice de diversidade de Shannon-Wiener tem claramente uma relação com os valores da riqueza de gênero. Nota-se que os dois índices crescem ou decrescem juntos, ou seja, a diversidade de Shannon é diretamente proporcional a riqueza de espécies.

Sobre isso, foi realizada uma pesquisa por Felisberto e Rodrigues (2012), no município de Diamante do Norte – PR, e os dados obtidos os permitiram afirmar que esses dois índices também apresentaram tendências muito semelhantes nos meses amostrais. Quanto a equitabilidade, observa-se que, em ambos os rios, há uma boa distribuição de gêneros nas amostras, porém, no rio Uraim a Equitabilidade é mais alta (0,13).

Em relação a abundancia relativa nos rios Prainha e Uraim nos dois períodos estudados, notou-se que no rio prainha no período chuvoso (Figura 10a) dentre os cinco gêneros registrado somente a *Navicula* sp (57,1 %) categorizou-se como abundante, a *Fragilaria* sp (25,4 %) como pouco abundante, e as demais *Aulacoseira* sp (9,5 %) *Encyonema* sp (6,3 %) *Nitzschia* sp (1,7 %) como raras.

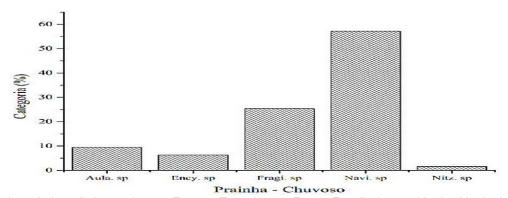



Figura 10a- Abundância de gêneros no rio Prainha no período chuvoso e seco. Paragominas – PA.

Legendas: *Aula. - Aulacoseira* sp; *Euno. - Eunotia* sp.; *Frag. -Fragilaria* sp.; *Navi. - Navicula* sp.; *Nitz. - Nitzchia* sp. Fonte: Autores (2018).

No período seco nesse mesmo rio a *Navicula* sp (41,6 %) foi a única novamente abundante dos nove gêneros identificados, *Aulacoseira* sp (31,7 %) como pouco abundante e as demais como raras (Figura 10b).

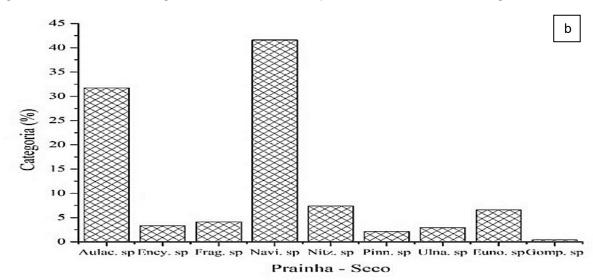



Figura 10b - Abundância de gêneros no rio Prainha no período chuvoso e seco. Paragominas – PA.

Legendas: *Aulac* sp*. - Aulacoseira* sp.; *Ency. - Encyonema* sp.; *Frag. -Fragilaria* sp.; *Navi. - Navicula* sp.; *Nitz. -Nitzchia* sp.; *Pinn. -Pinnularia* sp.; *Ulna – Ulnaria* sp.*; Euno – Eunotia* sp.; *Gomp - Gomphonema* sp. Fonte: autores (2018).

O gênero *Navicula* sp o único abundante no rio prainha é conhecido mundialmente e considerado com grande abrangência ambiental, determinadas espécies de *Navicula* sp são estimadas como potente indicadoras de impacto ambientais no ambiente aquático, principalmente em águas poluídas. Esta conclusão foi descrita na pesquisa realizada por Rangel et al. (2017) e corrobora com a efetuada em Paragominas.

Para o rio Uraim no período chuvoso não houve nenhuma espécie abundante, a *Aulacoseira* sp (26,1 %), *Encyonema* sp (13,0 %), *Fragilaria* sp, (21,7 %) e *Navicula* sp (34,9 %) foram categorizadas como pouco abundante e *Pinnularia* sp (4,3 %) como rara (Figura 11a).

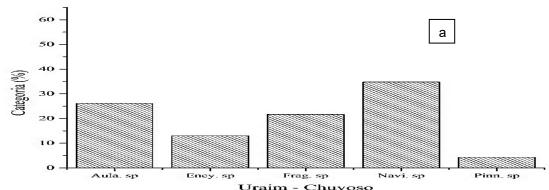



Figura 11a - Abundância de gêneros no rio Uraim no período chuvoso. Paragominas-PA

Legendas: *Aula.= Aulacoseira* sp., *Euno.= Eunotia* sp., *Navi.= Navicula* sp.,*Ulna.= Ulnaria* sp., *Pinn.= Pinnularia* sp. Fonte: autores (2018).

Já no período seco dos sete gêneros identificados *Aulacoseira* sp, (39,5 %), *Fragilaria* sp (15,3 %) e *Navicula* sp (28,2 %) foram consideradas como pouco abundante e *Encyonema* sp, (0,8 %) *Eunotia* sp. (4,8 %) *Ctenophora* sp, (7,3 %) *Cymbella* sp (4,1 %) como raras (Figura 11b).

Figura 11b - Abundância de gêneros no rio Uraim no período chuvoso. Paragominas-PA

Legendas: *Aulac.*sp - *Aulacoseira* sp; *Ency.* - *Encyonema* sp.; *Frag.* -*Fragilaria* sp.; *Navi.* - *Navicula* sp.; *Cten* – *Ctenophora* sp.; *Cymb.* – *Cymbella* sp.; *Euno.* - *Eunotia* sp. Fonte: autores (2018).

3.2. PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Os dados dos parâmetros físico-químico e ambientais obtidos e analisados indicaram que, de todos os parâmetros analisados somente o pH e fósforo total estão em desconformidade com o valor estabelecido pela resolução vigente (Tabela 5).

Tabela 5 – valores, médios ± desvio padrão dos parâmetros em 3 pontos de amostragem no rio prainha e 3 pontos no rio Uraim nos períodos chuvoso e seco. Paragominas-PA.

RIO PRAINHA							**RIO URAIM**					
	PERIODO CHUVOSO			**PERIODO SECO**			**PERÍODO CHUVOSO**			**PERIODO SECO**		
	$\bar{X}$		**D.P.**	$\bar{X}$		**D.P.**	$\bar{X}$		**D.P.**	$\bar{X}$		**D.P.**
pH	5,85	±	0,09	5,71	±	0,08	5,07	±	0,06	5,02	±	0,09
Temperatura	27,6	±	0,26	27,35	±	0,64	28,53	±	0,00	27,73	±	0,00
Turbidez	3,82	±	0,34	2,85	±	0,32	3,82	±	0,24	1,91	±	0,47
Sólidos Totais	33,33	±	1,53	23,51	±	3,01	19,63	±	0,33	16,56	±	1,03
DBO5	0,67	±	0,15	1,05	±	0,28	1,12	±	0,06	0,97	±	0,11
Fosforo	0,03	±	0,01	0,50	±	0,36	0,07	±	0,01	0,37	±	0,06
Nitrogênio Total	1,18	±	0,37	2,91	±	0,29	2,66	±	0,76	2,58	±	0,29
OD	5,74	±	0,06	5,47	±	0,21	6,25	±	0,04	6,53	±	0,25
C. T.	266,67	±	160,73	500	±	264,58	366,67	±	57,74	416,67	±	28,87
Condutividade	61,18	±	0,63	54,45	±	1,73	38,80	±	0,2	32,33	±	9,76
I. L.	28,30	±	14,84	38,24	±	33,50	293,77	±	198,18	306,60	±	205,9
Profundidade	0,55	±	0,23	0,47	±	0,23	2,94	±	1,81	5,00	±	0

Legendas: Máx. - Máximo; Min. – Mínimo; $\bar{x}$ - Média; D.P. – Desvio padrão; C.T – Coliformes Termotolerantes; I. L. – Intensidade Luminosa; V. V. – Velocidade do Vento; P. O. – Poder de Oxirredução.
Fonte: Autores (2018).

Dentre os parâmetros físicos e químicos analisados, o pH foi o único que apresentou médias abaixo do valor recomendado pela resolução CONAMA 357/05 (6 e 9) em todos os pontos de ambos os rios. No rio Prainha e Uraim os valores no período chuvoso e seco respectivamente estiveram em uma faixa levemente ácida (5,02 ± 0,09 mg/L à 5,71± 0,08 mg/L) e (5,07mg/L ± 0,06mg/L à 5,02±0,09). Os estudos efetuados em Uberabinha – MG, por Souto et al. (2011), e em Manaus – AM, por Pereira et al. (2012), também identificaram valores de pH em uma faixa levemente ácida.

A variação do pH comumente tem duas origens: natural, por exemplo, dissolução de rochas, absorção de gases, oxidação de matéria orgânica e fotossíntese, conforme a conclusão descrita na pesquisa realizada por Silva e Araújo (2017) ou antropogênica, isto é, despejos domésticos, na síntese escrita por Pereira et al. (2016).

Na pesquisa realizada em Uberlândia- MG, por Garcia et al. (2018), a análise dos dados que eles obtiveram os permitiu afirmar que elevadas concentrações de matéria orgânica diminuem o pH e aumentam a acidez do corpo hídrico. Em relação à variação do pH de origem antrópica, o estudo efetuado no Rio de Janeiro, por Menezes et al. (2016) concluiu que os parâmetros: fósforo total, nitrogênio e condutividade, também influenciam nos valores de pH, e que o aumento destes valores é observado em áreas mais urbanizadas, o que reflete a influência da área urbana na qualidade da água, chamado de "síndrome de córregos urbanos". Em relação ao fosforo total, esse parâmetro só esteve acima do valor estabelecido pela resolução (< 0,1 mg/L) somente no período seco do rio Prainha (0,50 ± 0,36 mg/L). Na pesquisa realizada por Bere; Tundisi (2010), no rio Monjolinho e seus afluentes, em São Paulo – SP, so dados laboratoriais identificaram altas concentrações de fósforo total no rio Monjolinho. Quanto ao aumento do fósforo total no rio Prainha, ele pode ser derivado de fontes naturais como a composição de rochas, escoamento superficial da água da chuva, e artificiais como efluentes domésticos e industriais, substâncias agrícolas e particulado de origem industrial presente na atmosfera (BUZELLI; SANTINO, 2013).

3.3. CORRELAÇÃO DOS DADOS BIÓTICOS E ABIÓTICOS

A diversidade de espécies em um corpo hídrico está diretamente relacionada com a estabilidade deste, logo possíveis alterações dos parâmetros físico-químico e ambientais na água têm grande possibilidade de alterar a ocorrência de gêneros nos rios.

Nas águas naturais, principalmente dos rios no sudeste do Brasil o **pH** tem como variação normal os valores compreendidos entre 6 e 9 (BRASIL, 2005). Este é considerado como um dos parâmetros físicos mais significante, e um dos mais complexos de se explanar, devido aos vários fatores que podem alterá-lo, principalmente a influência de condições naturais da bacia (LOPES; MAGALHAES JUNIOR, 2010).

A relação entre as diatomáceas e o pH é intensa, pois o pH pode influenciar diretamente no comportamento fisiológico das espécies. No estudo realizado, por Pereira, Torgan, Melo (2012), nas águas do rio Negro - AM, foi registrado baixos valores de pH (3,7 a 5,9), bem como identificado alta frequência o gênero *Pinnularia* sp que também foi encontrado no período seco no rio Prainha e no período chuvoso

no rio Uraim. Os autores também afirmam que esse gênero apresenta uma boa afinidade com baixos valores de pH.

Quanto à **temperatura**, trata-se de um parâmetro, no qual, a resolução 357:2005 não faz referência. No entanto, ela é essencial para o desenvolvimento da comunidade fitoplânctonica (diatomáceas), pois ela tem grande influência sobre fatores como: reações químicas e desenvolvimento de fitoplanctôn (PESSOA et al. 2017).

Neste estudo analisou-se os valores médios da temperatura dos rios Prainha e Uraim e dentre as diatomáceas que apresentaram afinidade com águas mais “frias” foi o gênero *Eunotia* sp. Este foi o mais representativo e exclusivo no período seco nos rios Prainha e Uraim, exatamente quando a temperatura estava, respectivamente, mais baixa (27,35 ± 0,64 °C) e (27,73 ± 0,00°C).

Em relação a **turbidez** e os **sólidos totais**, de acordo com Nardelli et al. (2016), são dois parâmetros que exibem definições análogas em termos de qualidade de água. Uma vez que, ambos estão relacionados à concentração de partículas presentes no meio aquático. Nos rios Prainha e Uraim, essa relação também foi identificada, visto que nos períodos em que o valor de sólidos totais foi baixo, a turbidez também foi baixa e a quantidade de diatomáceas foi elevada. De acordo com Queiroz e Oliveira (2018), em casos que o valor de turbidez seja elevado no período chuvoso é necessária uma maior precaução, uma vez que, a turbidez também intervém na penetração da luz na água, bem como na existência de fitoplanctons, algas e plantas submersas.

O parâmetro físico turbidez, está dentro do padrão estabelecido pela resolução CONAMA 357/05. No entanto, houve consideráveis variações deste parâmetro entre os períodos de estudo. No rio Prainha, não houve grandes variações de turbidez, mas no rio Uraim houve uma variação de 3,82 ± 0,34Ut (período chuvoso) para 1,91 ± 0,47 Ut (no período seco), o que pode ser explicado pela elevada precipitação no período chuvoso, e aumento da possibilidade de escoamento superficial.

No que se refere a **profundidade** este parâmetro assim como o nível das águas sofreu maior variação principalmente no período chuvoso. Análogo a estes alguns pontos nos dois rios em ambos os períodos de estudo sofreram variação, em termos de quantidade, dos gêneros de diatomáceas. No rio Prainha, houve a variação de profundidade, do período chuvoso para o seco de, respectivamente, 0,55±0,23m para 0,47±0,23m; e no rio Uraim de 2,94±1,81m para 5,00±0 m.

Dentre os fatores que contribuem para que no período chuvoso junto com o aumento da profundidade dos rios também ocorra variação das diatomáceas é o aumento das perturbações como o fluxo da correnteza. Esta mudança é percebida já no referido aumento da abundância de *Eunotia* sp, *Nitzschia* sp, *Gomphonema* sp no período chuvoso nos rio Prainha e Uraim.

A **DBO** trata-se de um dos parâmetros que quantificam o consumo de OD, através da oxidação da matéria orgânica e representa a quantidade de oxigênio necessária para oxidar esta matéria presente na água através da decomposição microbiana aeróbia. Os valores médios mais elevados de DBO foram registrados no período seco, no rio Prainha, com 1,05 ± 0,28 mg/L, e no período chuvoso no rio Uraim, com 1,12 ± 0,06 mg/L.

Ainda em relação a este parâmetro, altas taxas de DBO indicam lançamento de cargas orgânicas, e corrobora para diminuição do valor de OD. A este parâmetro estão associados os gêneros *Aulacoseira* sp (identificado em todos os períodos amostrais) *Nitzschia* sp*, Gomphonema* sp*, Fragilaria* sp e *Navicula* sp que, segundo Laux (2011), estas são abundantes principalmente no período seco, com variações de DBO entre 1,1-1,7mg/L, onde esta última é considerada como uma indicadora de águas impactadas de origem antrópica.

Os parâmetros **fósforo e nitrogênio** também são parâmetros importantes, pois trata-se de minerais de extrema significância para os organismos aquáticos. Na pesquisa feita por Moresco, Guabini e Rodrigues (2015), estes consideram o nitrogênio e o fósforo como os principais nutrientes limitantes para o crescimento de algas, e que sob concentrações elevadas podem ocasionar perdas da biodiversidade de algas e aumento de espécies indicadoras de eutrofização como, por exemplo, a *Gomphonema* sp*, Nitzschia* sp*, Pinnularia* sp *e Ulnaria* sp. O gênero *Gomphonema* sp só foi identificada uma vez neste estudo, exatamente no período seco no rio Prainha onde a concentração de fosforo foi um pouco maior (0,50 mg/L ± 0,36) que o valor estabelecido pela resolução (<0,1 mg/L).

Outra variável importante, porém, que não apresentou grandes variações nos dois rios e que está em conformidade com a CONAMA 357/05 é o **OD**. Esta é uma variável muito importante, pois está relacionada com a respiração de grande parte dos organismos que habitam o meio aquático. No rio Prainha, os valores de OD no período chuvoso e seco correspondem, respectivamente a 5,74 ± 0,06 mg/L e 5,47 ± 0,21 mg/L, e no rio Uraim, 6,25 ± 0,04 mg/L e 6,53 ± 0,25mg/L.

Segundo Garcia et al. (2018), águas poluídas por esgotos apresentam baixa concentração de OD, pois durante a decomposição da matéria orgânica, este é consumido no processo. Em contrapartida, águas límpidas tendem a apresentar OD mais elevado, exceto em casos em que condições naturais, como espessura da lâmina de água, temperatura e pressão causem baixos valores deste parâmetro.

Em Paragominas, verificou-se que o nível de OD no período seco, pode estar relacionados com as reações bioquímicas que utilizam o oxigênio aumentam com a elevação da temperatura, portanto, o nível de OD tende a ser mais crítico em períodos secos, onde sua solubilidade em água diminui e, em águas eutrofizadas, o consumo aumenta. Este parâmetro está associado aos gêneros *Gomphonema* sp*, Nitzschia* sp (identificados nos períodos chuvoso e seco do Prainha) e *Navicula* sp (identificado em todos os períodos amostrais).

Em relação a **intensidade luminosa,** este parâmetro afeta as taxas de respiração e de fotossíntese dos organismos. Pellegrini e Ferragut (2012) efetuaram um estudo sobre as comunidades de algas perifíticas, no município de São Paulo - SP, e concluíram que, no período em que a disponibilidade de luz é maior (período seco) há um maior desenvolvimento do perifíton (diatomáceas). No estudo realizado por Moresco, Guabini, Rodrigues (2015), eles também destacaram o efeito da luz sobre o crescimento e composição de diatomáceas perifíticas.

Para o parâmetro **coliforme termotolerantes,** foi observado que durante a coleta de dados *in situ*, os efluentes domésticos desaguam livremente nos corpos dois corpos hídricos, sem nenhum tipo de tratamento principalmente no rio Prainha, onde unidades arquitetônicas localizas às margens deste corpo hídrico. Acerca desse tipo de ação Santos et al. (2018) efetuaram um estudo em concluiram quando é realizada a análise da água e é detectado contaminação por coliformes, isto denota que, naquele local, houve descarga de esgoto em período recente.

Em relação a presença/ausência de diatomáceas, identificou-se que os gêneros *Pinnularia* sp*, Gomphonema* sp*, Nitzschia* sp *e Eunotia* sp, foram mais abundantes onde havia elevados teores de coliforme fecais, que são nutrientes oriundos de fontes pontuais da cidade de Paragominas, identificadas no presente estudo.

No que se refere a **condutividade** é um parâmetro que possui a capacidade medir o quanto a água pode transmitir de corrente elétrica, devido concentração dos íons presentes, dentre estes: cálcio, magnésio, potássio, sódio, carbonato, sulfato,

cloreto etc. Segundo Bere e Tundisi (2010), com aumento da condutividade, espécies tolerantes a baixa condutividade (25,96 - 102,83 uS), como o gênero *Aulacoseira* sp são substituídas por espécies tolerantes de alta condutividade, como, por exemplo, *Gomphonema* sp *e Nitzschia* sp.

Quanto a importância do conhecimento dos valores de condutividade está no fato de que é um parâmetro que permite não só caracterizar o ambiente, mas também oportuniza a realização de relações com as espécies de diatomáceas presentes.

4. CONCLUSÃO

As águas dos dois ambientes lóticos apresentaram uma maior tendência para a perda na qualidade da água no período seco, porque, neste período, dois parâmetros apresentaram desconformidade com os valores estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05. No entanto, a perda da qualidade da água está mais acentuada no Rio Prainha, devido a altas concentrações de fósforo e acidez.

Quanto a presença de diatomáceas nos dois corpos hídricos analisados, ambos possuem indivíduos representativos, com maior frequência no rio Prainha, no período seco, exatamente onde houve maiores concentrações de fosforo total e presença de um gênero que é altamente sensível a ausência de nutrientes, embora no rio Uraim também tenha apresentado uma frequência de indivíduos. No período chuvoso, a frequência das diatomáceas diminuem em ambos os rios. Quanto a ausência das diatomáceas no período seco, poucos gêneros estiveram ausentes, enquanto no período chuvoso, o número de gêneros ausentes foi maior em ambos os rios.

Portanto, as diatomáceas assim como os parâmetros físico-químicos em situações de alteração da característica natural de um corpo hídrico, também são bastantes sensíveis e capazes de indicar a qualidade da água, inclusive de rios urbanos. Por este estudo se tratar de um estudo pioneiro no município de Paragominas-PA, necessita-se de novas pesquisas, uma vez que, os rios estudados são de extrema importância para o município e tem como único método a análise laboratorial tradicional.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, P. D.; BICUDO, D. C. Diatomáceas planctônicas e de sedimento superficial em represas de abastecimento da Região Metropolitana de São Paulo, SP, Sudeste do Brasil, **Hoehnea**, São Paulo, v. 41, n. 2, p. 187-207, dez. 2014.

ALVARENGA, L. A et al. Estudo da qualidade da água em microbacia, afluente do rio Paraíba do Sul – São Paulo, após ações de preservação ambiental. **Revista Ambiente & Água**, Taubaté, v. 7, n. 3, p. 228-240, nov. 2012.

ANA. Agência Nacional de Água. **Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras, da Agência Nacional das Águas.** Brasília, ANA, v. n.2, 2011.

BERE, T.; TUNDISI, J. G. Biological monitoring of lotic ecosystems: the role of diatoms, **Braz. J. Biol**, São Carlos, v. 70, n. 3, p. 493-502, ago. 2010.

BERE, T.; TUNDISI, J. G. Diatom-based water quality assessment in streams influence by urban pollution: effects of natural and two selected artificial substrates, São Carlos-SP, Brazil**, Braz. J. Aquat. Sci. Technol.** Itajaí, v.15, n. 1, p. 54-63, mar. 2011.

BERTOLLI, L. M.; TREMARIN, P. I.; T. LUDWIG A. V. Diatomáceas perifíticas em Polygonum hydropiperoides Michaux, reservatório do Passaúna, Região Metropolitana de Curitiba, Paraná, Brasil, **Acta bot. Bras.** Minas Gerais, v. 24, n. 4, p. 1065-1081, jun. 2010.

BRASIL. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 mar., n. 53, p. 58-63.

BRASIL. Fundação Nacional Da Saúde. **Manual prático de análise deágua**. 4º ed. Brasília: FUNASA, 2013.

BUZELLI, G. M.; SANTINO, M. B. C. Análise e diagnóstico da qualidade da água e estado trófico do reservatório de Barra Bonita, SP. **Ambiente & Água-An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, São Paulo, v. 8, n. 1, jun. 2013.

CHELLAPPA, N. T.; CÂMARA, F. R. A.; ROCHA, O. Phytoplankton community: indicator of water quality in the Armando Ribeiro Gonçalves Reservoir and Pataxó Channel, Rio Grande do Norte, Brazil, **Braz. J. Biol**., São Carlos, v. 69, n. 2, p. 241-251, mai. 2009.

ESRI. ENVIRONMENTAL SYSTEMS RESEARCH INSTITUTE. ArcGIS. Sistema de Informação Geográfica para área de trabalho de computador, versão 10.1. 2013. Disponível em: <https://www.arcgis.com/features>. Acesso em: 06 nov. 2018.

FELISBERTO, S. A.; RODRIGUES, L. Dinâmica sucessional de comunidade de algas perifíticas em um ecossistema lótico subtropical, **Rodriguésia**. Rio de Janeiro, v. 63, n. 2, p. 463-473, out. 2012.

GARCIA, J. M et al. Degradação ambiental e qualidade da água em nascentes de rios urbanos. **Sociedade e Natureza**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 228-254, jan./abr. 2018.

GARCIAS, C. M. et al. Revitalização de rios urbanos: estudo de caso bacia do rio Belém, Curitiba-PR. **Brazilian Journal of Development,** Curitiba, v. 6, n.2, p. 6088-6096, 2020.

HEINRICH, C. G et al. Epilithic diatoms in headwater areas of the hydrographical sub basin of the Andreas Stream, RS, Brazil, and their relation with eutrophication processe, **Acta Limnologica Brasiliensia**. Rio Claro, v. 26, n. 4, p. 347-355, nov. 2014.

GUEDES, J. A. Poluição de rios em áreas urbanas. **Ateliê Geográfico.** Goiânia, v. 5, n.2, p. 212 – 226, ago. 2011.

IDESP. Instituto De Desenvolvimento Econômico, Social E Ambiental Do Pará. **Estatística Municipal: Paragominas.** Belém, 2014. Disponível em: <http://fapespa2.pa.gov.br/pdf/estatisticaMunicipal/pdf/Paragominas.pdf>. Acesso em 31 out. 2018.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Cidades**, 2010. Disponível em: <http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=150550&search=para%7Cparagominas>. Acesso em: 20 jan. 2018.

INMET. INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Clima, temperatura e precipitação de Paragominas.** 2013. Disponível em< http://www.inmet.gov.br/portal>. Acesso em: 18 mai. 2018.

LAUX, M. **Diatomáceas (Bacillariophyta) dos rios formadores do Delta do Jacuí, Rio Grande do Sul:** composição florística e variação sazonal. 2011. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

LOBO, E. A et al. **Guia ilustrado para sistemas lóticos subtropicais e temperados Brasileiros da Universidade de Santa Cruz do Sul.** Santa Cruz do Sul, Universidade de Santa Cruz do Sul. 2016.

LOBO, E.; LEIGHTON, G. Estruturas de las fitocenosis planctônicas de los sistemas de desembocaduras de rios y esteros de la zona central do Chile. **Revista de Biologia Marinha.** Valparaíso, n. 1, v.22, p. 143-170, jul.1986.

LOPES, W. F. A.; MAGALHÃES JÚNIOR, A. P. Influência das condições naturais de pH sobre o índice de qualidade das águas (IQA) na bacia do Ribeirão de Carrancas. **Revista Geografias**, Belo Horizonte, v. 6, n. 2, p. 134-147, fev. 2010.

MARINHO, J. C.; FARIA JÚNIOR, C. H F. Diagnóstico da atividade pesqueira praticada por pescadores filiados a colônia de pescadores Z-66, do município de Curuá-PA. **Brazilian Journal of Development,** Curitiba, v. 6, n. 2, p. 8780-8794, 2020.

MATIAS-PEREIRA, J. **Manual de metodologia da pesquisa cientifica**. São Paulo: Atlas, 2016.

MENEZES, J. P. C *et al*. Relação entre padrões de uso e ocupação do solo e qualidade da água em uma bacia hidrográfica urbana. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 3, p. 519-534, jul./set. 2016.

MICROSOFT EXCEL OFFICE. **Gerenciador de planilhas eletrônicas**. [S.I.]: Microsoft Corporation, 2010. Programa. 1 CD-ROM. 2016. Disponível em: <https://office.microsoft.com/pt-br>. Acesso em: 06 nov. 2018.

MORESCO, C et al. Diatomáceas perifíticas abundantes em três córregos com diferentes ações antrópicas em Maringá, PR, Brasil, **Rev. Brasil. Bot.**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 359-373, jul/set. 2011.

MORESCO, C.; RODRIGUES, L. Periphytic diatom as bioindicators in urban and rural streams, **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 36, n. 1, p. 67-78, jan/mar. 2014.

MORESCO, C.; GUABINI, E. A.; RODRIGUES, L. Periphytic diatoms as bioindicators in a tropical stream: from urban to rural environments, **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 37, n. 4, p. 427-437, out. /dez. 2015.

NARDELLI, M. S *et al.* Structure and dynamics of the planktonic diatom community in the Iguassu River, Paraná State, Brazil, **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 76, n. 2, p. 374-386, mai. 2016.

ORIGIN LAB. **Software de análise de dados e gráficos**: Origin Lab Corporation, 2013. Disponível em: < https://www.originlab.com/>. Acesso: 06 nov. 2018.

PELLEGRINI, B. G.; FERRAGUT. C. Variação sazonal e sucessional da comunidade de algas perifíticas em substrato natural em um reservatório mesotrófico tropica. **Acta Botanica Brasilica**. Belo Horizonte, v. 26, n.4, p. 810-821, jun. 2012.

PEREIRA, A. C.; TORGAN, L. C.; MELO, S. Pinnularia (Bacillariophyta) do curso inferior do rio Negro, Amazonas, Brasil: taxonomia e distribuição temporal, **Acta Amazonica**, Manaus, v. 42, n. 3, p. 205-314, nov. 2012.

PEREIRA JÚNIOR, A *et al*. As diatomáceas como indicadoras da qualidade da água em rios Urbanos. **Multidisciplinary Reviews**, v. 1, set. 2018.

PEREIRA, P. S.; PEREIRA, A. M. B.; CASTRO, C. L. F. Percepção dos moradores sobre a poluição do rio Cariús, município de Farias Brito, Ceará. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**. Santa Maria, v. 20, n. 1, p.363-371, jan. /abr. 2016.

PESSOA, E. K. R *et al.* Variações temporais dos parâmetros limnológicos, os grupos frequentes e índices biológicos da comunidade fitoplanctônica do açude Santa Cruz, Rio Grande do Norte, Brasil. **Biota Amazônia**, Macapá, v. 7, n. 2, p. 59-64, ago. 2017.

PINTO, A et al. **Diagnóstico Socioeconômico e Florestal do município de Paragominas.** Relatório Técnico. Belém: Instituto do Homem e Meio Ambiente da Amazônia – Imazon. Disponível em: < http://imazon.org.br/PDFimazon/Portugues /outros/iagnostico-socioeconomico-e-florestal-do.pdf>. Acesso em: 03 out. 2018.

QUEIROZ, T. M.; OLIVEIRA, L. C. P. Qualidade da água em comunidades quilombolas do Vão Grande, município de Barra do Bugres (MT). **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 1, p. 173-180, mai.2018.

RANGEL, A. J *et al*. Comunidade fitoplanctônica como discriminador ambiental em um trecho do rio salgado, semiárido nordestino. **Cadernos de Cultura e Ciência**, Crato, v. 15, n. 2, p. 29-41, out. 2017.

RODRIGUES, E. H. C et al. Variação temporal do fitoplâncton em um rio tropical pré-amazônico (Rio Pindaré, Maranhão, Brasil). **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 37, n. 2, ago. 2015.

RODRIGUES, W.C. **DivEs - Diversidade de Espécies -** Guia do usuário versão 4.0 (AntSoft Sytems On Demand). Disponível em: <http://dives.ebras.bio.br>. Acesso em: 06 nov. 2018.

SALOMANI, S. E *et al*. Application of water quality biological indices using diatoms as bioindicators in the Gravataí river, RS, Brazil. **Brazilian Journal of Biology.**, São Carlos, v. 71, n. 4, p. 949-959, nov. 2011.

SANEPAR. AGÊNCIA DE SANEAMENTO DE PARAGOMINAS. **Bacia do Uraim.** 2014. Disponível em: <http://saneparagominas.com.br/agua/bacia_uraim/>. Acesso em: 28 fev. 2018.

SANTANA, L. M. et al. Spatial and temporal variation of phytoplankton in a tropical eutrophic river. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 76, n. 3, p. 600-610, ago. 2016.

SANTOS, E. M et al. Análise Espacial das Ações do Programa “Municípios Verdes”: Estudo de Caso no Município de Paragominas-PA. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**. Pombal, v. 11, n. 1, p. 21-35, jan./dez. 2017.

SANTOS, R. C. L *et al*. Aplicação de índices para avaliação da qualidade da água da bacia costeira do Sapucaia em Sergipe. **Eng. Sanit. Ambient.** Rio de Janeiro, v. 23, n. 1, p. 33-46, jan./fev. 2018.

SANTOS, R. K. **Trajetória sucessional de diatomáceas perifíticas de substratos artificiais em reservatórios urbanos**. 2017. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2017.

SCHUCH, M.; ABREU JÚNIOR, E. F.; ALCAYAGA, E. L. Water quality of urban streams, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil, based on physical, chemical and biological analyses. **Bioikos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 3-12, jan./jun. 2012.

SILVA, M. A; ARAÚJO, R. R. Análise temporal da qualidade da água no córrego limoeiro e no rio Pirapozinho no estado de São Paulo- Brasil. **Revista Formação**, São Paulo, v. 1, n. 24, p.182-203, jan./abr. 2017.

SILVEIRA, Denise Tolfo; CÓRDOBA, Fernanda Peixoto. Métodos de pesquisa. *In*: GERHARD, T. E.; SILVEIRA. D. T. (Org). **Métodos da Pesquisa**. Porto Alegre: UFRGS, 2009, p. 31 – 42.

SOUSA, E. B *et al*. Variação temporal do fitoplâncton e dos parâmetros hidrológicos da zona de arrebentação da Ilha Canela (Bragança-Pará-Brasil). **Acta Botanica Brasilica**, São Carlos, v. 23, n. 4, p. 1084-1095, mar. 2009.

SOUTO, R. M *et al*. Influence of environmental factors on benthic macroinvertebrate communities of urban streams in Vereda habitats, Central Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**. Rio Claro, v. 23, n. 3, p. 293-906, abr. 2011.

CAPÍTULO 13

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *TRICHODERMA VIRIDE* E *TRICHODERMA STROMATICUM.*

Eliéte Moura de Souza Hurmann
Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) Instituição: Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Endereço: Rua Equador, 291 - Jardim Gisela, Toledo - PR, Brasil
E-mail: elietehurma@hotmail.com

Tayrine Mainko Hoblos Pozzobon
Mestranda em Bioenergia pela Universidade Oeste do Paraná Instituição: Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Endereço: Rua Rio Branco 74, Colider, MT
E-mail: tayrine_hoblos@hotmail.com

Cleide Viviane Buzanello Martins
Doutora em Ciências Biológicas (Microbiologia) pela Universidade Federal de Minas Gerais e Pós-Doutorado pela Universidade Federal de Minas Gerais e pela Brown University, Rhode Island Hospital, RI, USA.
Instituição: Universidade Estadual do Oeste do Paraná Campus - Toledo
Endereço: Rua Desembargador Paula Mota, 945, apto 202, bl 02, Bairro Ouro Preto, Belo Horizonte MG
E-mail: cvbmartins@gmail.com

RESUMO: os *Trichoderma* spp. São antagonistas promissores, o desenvolvimento e uso de produtos à base deste microrganismo nos oferece a oportunidade, não apenas de reduzir os riscos da saúde, mas também custos e danos ambientais. Assim, este trabalho teve por objetivo analisar a eficiência dos extratos de *Trichoderma viride* e *Trichoderma stromaticum* contra alguns microrganismos de interesse na clínica médica, agricultura e piscicultura. Dentre eles o *Colletotrichum musae*, causador da antracnose da banana, *Saprolegnia*, que acomete ovas de peixes e algumas bactérias que causam danos à saúde humana. Os extratos diclorometânicos foram testados em várias concentrações, tendo como controle positivo um antimicrobiano comercial. A inibição do patógeno foi verificada, de forma direta pela técnica de cultivo pareado. A atividade antimicrobiana dos extratos foi avaliada por disco-difusão e pela determinação da concentração inibitória mínima (MIC) por teste de microdiluição em caldo. Foram feitos testes *in situ* no fruto, inoculando o fungo patogênico e tratados com os extratos e a análise sensorial onde foi determinada a aceitação do produto. No cultivo pareado *T. viride* e *T. stromaticum* inibiram o crescimento dos patógenos ($p<0,05$ %). de significância. No teste de disco-difusão os o obteve-se halo de XX mm e YY mm contra Aeromonas hydrophila e Escherichia coli, respectivamente. O MIC (concentração inibitória mínima) dos extratos contra os microrganismos variou de 50 % a 3,125 %. Diante dos resultados apresentados, evidenciou-se que, os extratos foram eficientes na inibição *in vitro* dos microrganismos testados, bem como sua aplicação nos frutos não alterou as características organolépticas dos mesmos.

PALAVRAS-CHAVE: *Trichoderma* sp.; antimicrobiano; *Colletotrichum musae.*

ABSTRACT: Trichoderma spp. is a promising antagonist, the development and use of products based on this microorganism give us the opportunity, not only to reduce health risks, but also costs and environmental damage. This work aimed to analyze the efficiency of Trichoderma viride and Trichoderma stromaticum extracts against some microorganisms of interest in clinical medicine, agriculture and fish farming. Among them the Colletotrichum musae, which causes anthracnose of the banana, Saprolegnia, which affects fish eggs and some bacteria that cause damage to human health. The dichloromethane extracts were tested in several concentrations, and as positive control a commercial antimicrobial. Inhibition of the pathogen was verified directly by paired cultivation technique. The antimicrobial activity of the extracts was evaluated by disk diffusion and the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) by microdilution test broth. *In situ* tests were done in the fruit inoculating the pathogenic fungus and treated with the extracts and the sensory analysis where it was determined the acceptance of the product. In cultivation paired the Trichoderma spp. inhibited the growth of pathogens ($p<0,05$), and for Escherichia coli and Aeromonas hydrophila gave the best results. In the disc-diffusion test the halo of XX mm and YY mm were obtained against Aeromonas hydrophila and Escherichia coli, respectively. MIC against microorganisms of the extracts ranged from 50 % to 3,125 %. Given the results presented, it is concluded that the extracts were effective in in vitro inhibition of the microorganisms as well as their application in the fruits did not alter the organoleptic characteristics.

KEYWORDS: *Trichoderma* sp.; antimicrobial; *Colletotrichum musae.*

1. INTRODUÇÃO

As fontes alimentares mais importantes do mundo são ocupadas pelo arroz, trigo, milho e a banana, sendo que este fruto ocupa a segunda posição na produção global (PERREIER *et al*., 2011). Com uma produção de 95 milhões de toneladas a cultura da banana, apresenta uma área de plantio estimada em 4,1 milhões de hectares sendo cultivada em 107 países. O Brasil é o quinto maior produtor mundial de bananas. Estima-se que a produção dessa fruta empregue, direta e indiretamente, 960 mil pessoas no mundo (FAO, 2012).

Várias podridões podem ocorrer na fase de pós-colheita da banana, porém a de maior destaque é dado à antracnose que é causada pelo fungo *Colletotrichum musae*, que acomete principalmente a fruta madura (VENTURA e HINZ, 2002).

Vários estudos demonstram a eficiência no controle da antracnose por meios alternativos, mas a utilização de fungicidas comerciais ainda é o mais comum (LIMA *et al*., 2007; NOLASKO *et al*., 2008).

Segundo a FAO (2011), uma atividade que vem apresentando um crescimento acelerado é a aquicultura, em especial a piscicultura, com a introdução de fazendas de criação em sistema superintensivo. Os peixes são mantidos em elevada densidade de estocagem, em produções superintensiva, o que propicia o estresse e imunossupressão. A elevada densidade de estocagem favorece a ocorrência de infecções, uma das mais ocorrentes é a saprolegniose, cujo agente etiológico é o oomiceto aquático *Saprolegnia* spp. Segundo West (2006), esta doença provoca perdas massivas com sérios prejuízos econômicos aos piscicultores.

Capazes de atuarem como agentes de controle de doenças de várias plantas cultivadas, os fungos do gênero *Trichoderma* tem uma grande importância econômica para a agricultura (HAGGARD 2006, FOERTES *et al*., 2007).

Segundo Gauch (1996), o *Trichoderma* pode interagir com o patógeno de diversas maneiras, tais como antibiose, competição, parasitismo, hipovirulência, predação ou indução de defesa do hospedeiro. Para Bettiol *et al*., (2008), o *Trichoderma* spp. é sem dúvida, o agente de controle biológico de doenças de plantas mais estudado no Brasil e em outros países da America Latina.

Esta atividade de biocontrole é devido, principalmente à produção de enzimas líticas extracelulares degradadoras da parede celular dos fungos, tais como quitinases, β-1, 4-glucanases e proteases (CORABI-ABELL e LUCON, 2002).

Segundo Souza et al., (2011), os agrotóxicos no Brasil tiveram, a partir da década de 70, seu uso estimulado com afinco por políticas de estado onde a concessão de crédito agrícola era vinculado a sua aquisição, e pela oferta comercial que enaltecia suas propriedades de diminuir o trabalho com pragas e de beneficiar alimentos e trabalhadores.

A política para apoiar o uso dos agrotóxicos, não somente por agricultores com maior capital ou principalmente, pequenos produtores intimidados e impulsionados por uma maior rentabilidade, contribuiu para sua utilização sem o devido controle (SOARES, 2010).

Neste contexto em que a busca por métodos alternativos que diminuam a utilização de produtos nocivos e ao mesmo tempo tragam rentabilidade para a atividade do produtor e sendo o *Trichoderma* spp. um antagonista promissor e agente de biocontrole de doenças de plantas e por produzir enzimas líticas é que foi proposto este trabalho com o objetivo de avaliar a eficiência do extrato de *Trichoderma viride* e *Trichoderma stromaticum* contra alguns microrganismos patogênicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia da Universidade Oeste do Paraná (Unioeste), *Campus* Toledo - PR e Laboratório de Biotecnologia da Pontifícia Universidade Católica (PUC), *Campus* Toledo – PR.

DESENVOLVIMENTO DOS EXTRATOS

O extrato foi desenvolvido a partir das espécies *Trichoderma viride* e *Trichoderma stromaticum* provenientes do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Para a obtenção dos extratos foi seguida a metodologia proposto por ROSA *et al*., (2013). Para tanto os fungos foram repicados em aproximadamente 30 placas de Petri (90 mm de diâmetro) contendo 20 mL de meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar). As placas foram incubadas por 15 dias, a 28ºC em estufa BOD (demanda bioquímica de oxigênio). Foram cortados o meio de cultura juntamente com os micélios das colônias crescidas, em pequenos fragmentos e transferidos os mesmos para frascos de vidro tipo Erlenmeyer de 150 mL. Os fracos foram tapados com uma folha de papel toalha e armazenados por 24 horas a -80°C como preparação para a etapa seguinte. Os fragmentos foram submetidos à liofilização, separadamente

conforme a espécie de fungo, para remoção da água por 5 dias ou até os mesmos apresentarem um aspecto seco, como “flocos de aveia”. Após o processo de liofilização foi acondicionado em Erlenmeyer de 500 ml e acrescentados o diclorometano até que o mesmo cobrisse a massa de fragmentos secos. Posteriormente a este processo, vedou-se com rolha simples envolta por papel alumínio. Os frascos foram mantidos à temperatura ambiente. Após 3 a 4 dias, o conteúdo foi filtrado com papel filtro. A seguir, foi novamente acrescentado o diclorometano até cobrir a massa de fragmentos secos e após 3 a 4 dias, filtrado novamente. O extrato obtido foi concentrado e seco com auxílio do Rotavapor, onde foi retirado todo o diclorometano. Ao fim do procedimento, armazenado o produto a -20°C. O extrato obtido foi pesado em balança analítica e a quantidade de massa obtida foi de 23 gramas de cada espécie de fungos e armazenado para uso posterior.

PROCEDIMENTOS DOS EXPERIMENTOS

EXPERIMENTO 1. ISOLAMENTO DO *COLLETOTRICHUM MUSAE*

Para isolamento do *Colletotrichum musae* diretamente da casca da banana foi seguido a metodologia de Tuite (1969).

Foram aproximadamente 10 bananas, adquiridas em supermercado da cidade de Toledo – PR. Foram colocadas em temperatura ambiente e após 12 dias começaram a apresentar a antracnose, o aspecto da casca ficou escura e com manchas alaranjadas. O fungo foi isolado diretamente do fruto com auxílio de uma alça de platina em 8 placas de Petri, com meio de cultura BDA e incubadas em BOD por 7 dias a uma temperatura de 28°C, após este período o fungo havia tomado toda placa apresentando filamentos e apressórios, com crescimento visível de hifas com uma coloração malaranjada.

EXPERIMENTO 2. ISOLAMENTO DA *SAPROLEGNIA*

Para isolamento da *Saprolegnia* foi feito um esfregaço por meio de um swab diretamente no Jundiá (*Rhamdia quelen*), coletando uma quantidade de muco com crescimento visível de hifas de aspecto cotonoso (algodão) e espalhado diretamente na placa de Petri contendo meio BDA com cloranfenicol, para inibir o crescimento de bactérias. Foi incubado em BOD por 8 dias à 28°C, após este período o micélio havia tomado toda placa com hifas longas, formando chumaço de algodão, com uma coloração esbranquiçada.

CULTIVO PAREADO

Para avaliar o antagonismo entre *Trichoderma viride* e *Colletotrichum musae*, *Trichoderma viride* e *Saprolegnia*, *Trichodermastromaticum* e *Colletotrichum musae*, *Trichodermastromaticum* e *Saprolegnia*, realizou-se o teste do pareamento de culturas através da metodologia de cultura pareada (DENNIS; WEBSTER, 1971 ab). Em placas de Petri contendo meio de cultivo BDA, foram depositados quadrados de micélio de 6 mm^2 de área de cada fungo, ambos a 2,0 cm de distância da borda da placa, em posições opostas. Os quadrados foram obtidos de culturas puras, as quais foram incubadas à temperatura de 28ºC, conforme Amin et al., (2010), por 10 dias, calculando-se os valores médios de porcentagem de inibição em relação à testemunha, que recebeu apenas os patógenos *Colletorichum musae* e a *Saprolegnia*. A porcentagem da inibição do crescimento foi calculada usando a fórmula: Porcentagem de Inibição = [(C – T)/C] x 100, onde; C= crescimento radial do controle; T= crescimento radial do tratamento (MENTEL *et al*., 1976; SILVA et al., 2008). Também foram atribuídas notas baseadas na escala de Bell, Wells, Markham (1982), que estabelece o grau de antagonismo por meio da divisão em cinco classes de notas para diferenciação de níveis de antagonismo (notas: 1: controle total; 2: controle de 75 %; 3: controle de 50 %; 4: controle de até 25 %; 5: ausência de controle). O experimento foi disposto em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Os dados foram submetidos ao teste de covariância, onde a variância é o tempo. Foram realizadas as comparações das médias de crescimento do patógeno em relação ao antagonista, com auxílio, computacionais do programa Statistica.

Figura 1: Crescimento micelial (mm) dos fungos. (A) *Trichoderma stromaticum*, *Saprolegnia* e testemunha; (B) *Trichoderma viride*, *Saprolegnia* e testemunha (C); *Colletotrichum musae*, *Trichoderma stromaticum* e testemunha; (D) *Trichoderma viride*, *Colletotrichum musae* e testemunha.

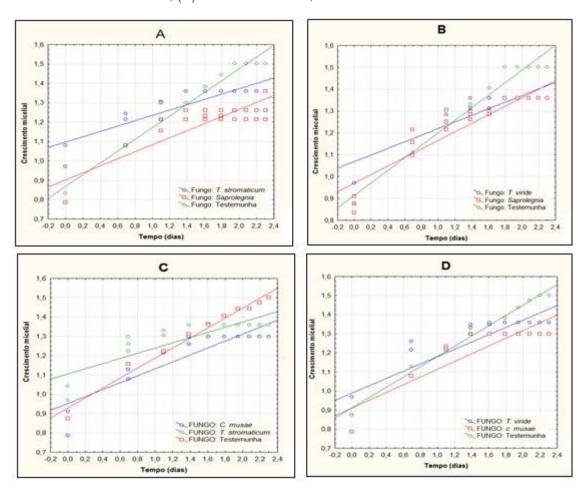



Tabela 1: Inibição do crescimento micelial dos antagonistas (%), *Trichoderma viride* e *Trichoderma stromaticum* contra *Colletotrichum musae* e *Saprolegnia* sp. em cultivo pareado.

	% de inibição/dia (Escala de Bell)		
Tratamentos	6º	8º	10º
C. musae X T. viride	40,85	56,88	56,88 (3)
C. musae X T. stromaticum	23,03	55,23	57,26 (3)
Testemunha*	59,08	69,2	89,37 (1)
Saprolegnia X T. viride	79,33	88,66	88,66 (1)
Saprolegnia X T. stromaticum	55,4	58,09	60,11 (3)
Testemunha**	69,05	88,3	89,26 (1)

* Colletotrichum musae; ***Saprolegnia*.

TESTE DE DISCO-DIFUSÃO

A metodologia de disco-difusão foi realizada de acordo com as normas padronizadas da técnica para execução da prova conforme manual da Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2013).

Para o Teste de disco-difusão foram selecionadas 3 espécies de bactérias que estavam armazenadas no Laboratório de Microbiologia da Universidade do Oeste do Paraná – Campus Toledo e 4 espécies de fungos entre eles, duas espécies de leveduras.

As bactérias foram reativadas em meio de cultura NA (Nutriente Ágar) e feito o experimento após 24 horas, as leveduras foram reativadas e após 48 horas feito o experimento e os fungos foram repicados em placas de Petri, com meio BDA e experimento realizado após 7 dias.

O inoculo foi preparado em solução salina 0,85 %, e ajustado sua turbidez de acordo com a solução padrão de MacFarland 0,5.

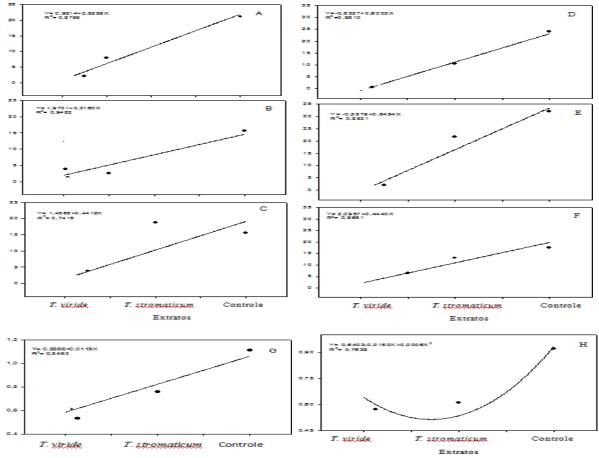
O meio de cultura usado para bactérias foi o Agar Müeller-Hinton e para os fungos o Agar Müeller-Hinton modificado pela adição de 20 mg de dextrose e 2 mg de azul de metileno.

Foi espalhada nas placas uma alíquota destes microrganismos com swab e colocado cinco discos sendo que, em cada disco foi adicionado 0,5 µL dos extratos, em três concentrações diferentes. Como controle foram utilizados discos de antimicrobianos disponíveis no mercado, sendo o cloranfenicol na concentração de 30 µg em cada disco e Fluconazol de 150 mg diluídos em 120 ml de água para bactérias e fungos respectivamente.

Após este processo as placas foram incubadas na BOD a 35°C para bactérias e após 24 horas foram feitas as medições dos halos, com auxílio de régua e o resultado expresso em (mm). Os fungos, foram incubados em BOD a 28°C e feitas as medições com auxílio de régua em mm, após 48 horas para leveduras e 7 dias para os filamentosos. Neste experimento foram utilizados 7 microrganismos entre bactérias, fungos filamentosos e leveduras.

As bactérias utilizadas foram *Aeromonas hydrophila, Enterobacter cloacae, Escherichia coli.* As leveduras utilizadas foram *Candida tropicalis, Candida krusei.* Os fungos filamentos utilizados foram *Colletotrichum musae,* e o oomiceto *Saprolegnia*

spp. O experimento foi disposto em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 3 repetições.

Figura 2: Atividade antimicrobiana através do halo de inibição, dos extratos de *Trichoderma viride* e *Trichoderma stromaticum* (A) *Candida cruzei* (B) *Candida albicans*; (C) *Colletotrichum musae* (D) *Saprolegnia*; (E) *Escherichia coli*; (F) *Enterobacter cloacae* (G) *Aeromonas hydrophila* (H) *Colletotrichum musae*.

Fonte: Os Autores

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) ATRAVÉS DO MÉTODO DE DILUIÇÃO EM MICROPLACA.

Para os microrganismos sensíveis aos extratos de *Trichoderma viride* e *Trichoderma stromaticum*, foram determinadas as concentrações mínimas inibitórias. Primeiramente preparou-se os meios de cultura, sendo para bactérias o caldo Müeller-Hinton e para os fungos o caldo Müeller- Hinton modificado pela adição de 20 mg de dextrose e 2 mg de azul de metileno. O inóculo foi preparado em solução salina 0,85 %, e ajustado sua turbidez conforme a solução padrão de MacFarland 0,5 (10^8 UFC/mL). A seguir, diluiu-se a suspensão bacteriana 1:10 em caldo Muller- Hinton, obtendo-se como inóculo 10^7 UFC/mL para a suspensão de levedura e fungos

filamentosos diluiu-se 1:50 seguida da diluição 1:20 em caldo Muller Hinton modificado, obtendo-se um inóculo de 10^5 UFC/mL. Foram distribuídos 100 µL do meio de cultura contendo os inóculos em cada poço da placa de microdiluição, a seguir acrescentou-se 100 µL da solução de cada extrato no primeiro poço, e após a homogeneização, transferiu-se até o quinto poço sucessivamente, obtendo-se as concentrações finais de: 50; 25; 12,5; 6,25 e 3,12 %. As microplacas foram incubadas a temperatura de 35°C por 24h para bactérias, 28°C por 2 dias para leveduras e 7 dias para fungos filamentosos. A determinação do CIM consistiu em analisar a placa, onde observou-se a menor concentração do extrato capaz de causar inibição total e parcial do crescimento conforme as recomendações do manual da Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2002; CLSI, 2003). Para auxiliar na leitura dos resultados foi utilizado, uma solução preparada com o corante resarzurina em que a coloração rosa indica crescimento microbiano e a coloração azulada indica ausência de crescimento microbiano.

Tabela 2: Concentração inibitória mínima (CIM) de extrato diclorometânico de *Trichoderma viride* para bactérias, leveduras e fungos filamentosos.

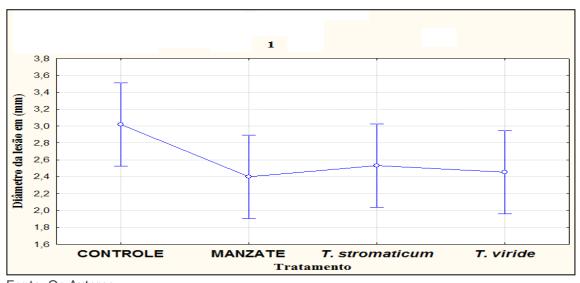
MIC (em % Microrganismo	Extrato T. viride	Extrato T. stromaticum
Escherichia coli	25	3,125
Enterobacter cloacae	12,5	3,125
Aeromonas	Hydrophila	
12,5		6,25
Candida albicans	6,25	50
Candida kruzei	25	3,125
Colletotricum musae	25	50
Saprolegnia	50	50

Fonte: Os Autores

TESTE *IN SITU* DA BANANA

Para avaliar a eficiência dos extratos de *Trichoderma* spp. Foram utilizadas bananas Prata anã que foram adquiridas de um agricultor de produtos orgânicos na região oeste do Paraná, no estágio de maturação 1(verde). No preparo das frutas utilizadas neste experimento, as pencas foram separadas em dedos e lavadas com detergente e água corrente, após estarem secosforam desinfectados com borrifado de hipoclorito de sódio (1,5 %) e após 15 minutos, lavados com água destilada e esterilizada e secas naturalmente. Para tanto separou-se 18 dedos das bananas sendo utilizadas 6 para cada tratamento, totalizando 3 tratamentos, com três

repetições. A inoculação do patógeno foi feito em 3 bananas de cada tratamento que consistiu na abertura de um orifício, no centro dos dedos, de aproximadamente 3 mm de diâmetro e 3 mm de profundidade no epicarpo da fruta, com auxílio de um vazador e escalpelo, onde foi inserido um disco de mesmo diâmetro que foi retirado da borda da colônia do patógeno desenvolvido em meio de cultura BDA + antibiótico cloranfenicol. Depois de 5 horas de inoculação do patógeno os dedos foram tratados com os extratos *de Trichoderma viride* e *Trichoderma stromaticum* e o fungicida comercial (Manzate) respectivamente, sendo que uma foi o controle e as outras duas obtinham somente os extratos para posterior teste sensorial. Seguindo o tratamento, os dedos foram colocados em bandejas plásticas, previamente desinfetadas, para secagem, sendo posteriormente transferidos para outras bandejas forradas com papel de filtro, contendo um chumaço de algodão, umedecido com água esterilizada e recoberta com filme plástico. Estas bandejas foram mantidas em câmaras de refrigeração a temperatura de 16ºC e umidade relativa a 95 %. Após 8 dias foram feitas as medições através da determinação do tamanho das lesões, com auxílio de um paquimetro analógico e os quatro dedos com o inóculo foram descartados no estágio sete de maturação (amarelo com pontas marrom). O delineamento foi totalmente casualizado, com três repetições. Os dados foram submetidos a análise de variância, Anova.

Figura 3: Lesões em bananas orgânicas (mm) no tratamento com os extratos de *Trichoderma viride* e *Trichoderma stromaticum*, fungicida comercial Manzate e Controle.

Fonte: Os Autores

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

CULTIVO PAREADO

No teste de pareamento entre os microrganismos *Trichoderma viride*e *Trichoderma stromaticum*,contra *Colletotrichum musae* e *Saprolegnia* sp., observou-se que o antagonismo da *Trichoderma* spp. sobre os patógenos foi estatisticamente significativo. As duas espécies de *Trichoderma* apresentaram um crescimento rápido, onde no 6º dia constatou-se o ápice de seu crescimento micelial o qual ocupou mais de 55 % das placas em relação aos patógenos, onde através da porcentagem da inibição do crescimento foi calculada usando a fórmula: Porcentagem de Inibição = [(C – T)/C] x 100, onde; C= crescimento radial do controle; T= crescimento radial do tratamento (MENTEL *et al*., 1976; SILVA *et al*., 2008), como pode ser observado na Tabela 1 em relação as testemunhas (*Colletotrichum musae* e *Saprolegnia*), que tiveram seu crescimento no início de forma lenta, mas que a partir do 6º dia tiveram seu crescimento micelial de forma mais acelerada por não estar competindo por espaço ou nutrientes. Esta inibição, apontada neste trabalho, vem de encontro com resultados obtidos por outros autores como Oliveira (2009) Ajith e Lakshmidevi (2010), indicando que o parasitismo direto e outros mecanismos estão envolvidos na ação de antagonismo do fungo do gênero *Trichoderma* como competição e antibiose descrito por Fravel (2005). Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com os mesmos encontrados por Bonett *et al*., (2013), onde o *T. viride* também antagonizou o *C. musae* em 57 e 50 %, esta inibição ocorre devido ao antagonista ter um crescimento rápido sobre o patógeno, muitas vezes pelo estímulo do próprio hospedeiro. Ainda segundo Bonett (2013), o *Trichoderma* acaba vencendo o patógeno por competição, espaço ou por nutrientes. Conforme Louzada *et al*., (2009) as espécies de *Trichoderma* atuam como parasitas em uma ampla gama de fitopatógenos e como agentes usados no biocontrole de doenças de plantas.

Conforme a Tabela 1, o *T. stromaticum*, assim como o *T. viride*, apresentou um crescimento micelial onde estabilizou em relação ao patógeno a partir do 6º dia. A *Saprolegnia* é um oomiceto que infecta ovas de peixes causando perdas irreparáveis na piscicultura, Larralde-Corona *et al*., (2008), afirma que os *Trichoderma* sp. são capazes de degradar micélio e microescleródios de *Macrophomina phaseolina*, formando uma estrutura em formato gancho que enrolando-se nas hifas do patógeno

impede seu crescimento, este formato pode explicar o resultado obtido, pois a *Saprolegnia* acaba formando um chumaço de algodão, segundo Siqueira (2004), pois as hifas desses fungos crescem de tal maneira, para fora do corpo do peixe, que parecem amontoados de algodão. Silva *et al*., (2008) constataram no teste de pareamento que o antagonismo exercido pelos isolados de *T. stromaticum, T. viride e T. virens* foi maior por hiperparasitismo onde o *T. stromaticum* ocupou 52 % na média de crescimento, este resultado vem confirmar o resultado deste trabalho onde a média de crescimento foi 57, 26 % como podemos observar na Tabela 1.

Os gráficos respresentados na Figura 1, mostram a velocidade do crescimento micelial em (mm) dos antagonistas em relação aos patógenos, podemos comprovar que nas figuras A, B, C e D a testemunha começa seu crescimento de forma lenta e que a partirdo 6º dia, a velocidade aumenta devido a falta de competitividade por nutrientes e espaço ao contrário dos antagonistas e patógenos que competem entre si. Estatísticamente diferiram entre si, onde o valor de *P* foi avaliado pelo teste Statística e o valor de *P* avaliado pelo ANCOVA.

Nos testes de disco-difusão os resultados para os 07 microrganismos testados tiveram um menor halo de inibição, comparando com o fungicida comercial, em função de ser o extrato bruto e a substância que está inibindo este crescimento ainda ser desconhecida, cabe aqui um estudo aprofundado sobre qual substância está causando esta inibição e em que concentração. O teste de disco-difusão dos extratos contra a *Saprolegnia* foi significativo 0,05 %, os extratos diferiram do controle demonstrando assim, atividade antimicrobiana dos mesmos (Figura 2, gráfico D). Entre as três concentrações, a menor concentração (10 %), teve resultado significativo sobre o *C. musae* (Figura 2, gráfico H), então pode se dizer que, o efeito sobre o patógeno é positivo. Este efeito em 10 % e não nas concentrações superiores pode ser explicado pelo efeito paradoxal de antimicrobianos, como por exemplo, caspofungina onde o aumento da concentração do antimicrobiano diminui a atividade do mesmo (FERREIRA *et al*., 2009). Este trabalho difere de outros, pois foi usado o extrato rico em metabólitos secundários para inibição dos patógenos entre eles podemos citar: ácido harziânico, alameticinas, antraquinonas, azafilonas, daucanas, harzialactonas, bisorbicillinoides, butenolides, tricholina, glisopreninas, ácido heptelídico, gliovirina, pironas, tricotecenos, isocianatos, trichosetina, viridina,

peptaiboles, entre outros, enquanto a maioria dos trabalhos com *Trichoderma* spp. Utiliza-se dos micélios e esporos desta espécie de antagonista.

A estatística usada para os resultados foi a ANOVA e o teste de Tukey à 0,05 % com programa Statística e quando não atingiu o pressuposto de homogeinidade de variância foi feito de variância similar não paramétrico - Kruskal-Wallis, ANOVA.

Para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi verificado a atividade antimicrobiana dos extratos em 7 microrganismos sendo 3 bactérias, 2 fungos filamentosos e 2 leveduras. A Tabela 2 apresenta os resultados de CIM para os extratos de *T. viride* e *T. stromaticum*, onde podemos observar que para todos os microrganismos os extratos tiveram resultados positivos nas concentrações testadas. O extrato de *T. stromaticum* foi três vezes mais eficiente do que o extrato de *T. viride* pois observou-se 3,125 % para todas as bactérias, isto aconteceu na *E. coli* também quando seu MIC foi 6,25 %, enquanto que o extrato de *T. viride* o CIM foi nas menores concentrações para leveduras diferentemente do extrato de *T. stromaticum* e ainda mostrando sua eficiência para os fungos onde se destaca o *C. musae* na concentração de 25 %.

O CIM para fungos e bactérias de óleos essenciais de Lauraceae foram estudados por Simié et al., (2004), as menores concentrações foram as que inibiram o crescimento dos fungos, diferentemente dos resultados deste trabalho onde as menores concentrações inibiram o crescimento das bactérias e de fungo também. O extrato de alho (*Alliumsativum*) foi testado sua atividade antifúngica em microplacas, testados em frutos de espécie à família *Arecacea* (*Palmae)* e usando metodologia de microdiluição em caldo, observou-se que a atividade antimicrobiana aumentou a diminuição da polaridade dos extratos de *Syagrus oleracea*, este resultado foi devido a presença de ácidos graxos (SILVEIRA *et al*., 2005).

O teste *in situ* banana foi avaliado e não foi observado o resultado esperado devido a quantidade de réplicas que não foram suficientes. Como podemos observar na Figura 3, o diâmetro da lesão de todos os tratamentos, não diferenciaram entre si, mas diferenciam do controle, mesmo tendo temperatura e umidade controlada por BOD. O inoculo nas bananas não tiveram desenvolvimento conforme esperado, apenas em um controle do tratamento Manzate fungida comercial, observou-se que o inoculo *C. musae* desenvolveu-se além do esperado impossibilitando a medição, que foram feitas com auxílio de um paquímetro no 8º dia na maturação 7. As bananas

apresentaram uma aparência normal quando comparada com a inoculação do patógeno, mostrando uma lesão com diâmetro pequena. Ao avaliar a ação de espécies de *Colletotrichum* isoladas de diferentes frutas (PERES et al., 2002) observou que sete dias após a inoculação, todas as frutas inoculadas apresentaram incidência de *C. musae* e as frutas inoculadas com *Colletotrichum acutatum* e *Colletotrichum* spp. não apresentaram sintomas da doença comparadas aquelas inoculadas com isolados do hospedeiro de origem. Estes resultados mostraram a especificidade e a importância do *C. musae* como causador da antracnose em bananeiras. Neste experimento, os resultados não diferiram entre si, quando submetidos à ANOVA, seguida de teste de Tukey à 0,5 %.

4. CONCLUSÃO

Ao final de todos os testes realizados com os extratos obtidos com *T. viride* e *T. stromaticum* pode-se afirmar que estes extratos foram eficientes no controle das espécies de bactérias, fungos e leveduras usadas neste trabalho. A determinação da concentração inibitória mínima foi promissora principalmente para bactérias, indicando a necessidade de experimentos adicionais e a necessidade de isolamento do composto responsável pela inibição. Os extratos demonstraram que para cada microrganismo a inibição depende da concentração usada, por ser um extrato bruto.

AGRADECIMENTOS

Ao assistente do Laboratório de Microbiologia Fernando, pela disposição e prontidão em responder minhas solicitações.

Aos colegas Édela e João pela ajuda e auxílio nas análises microbiológicas e em todas as horas em que foram solicitados.

A Fundação Araucária pela concessão da Bolsa de estudos nestes últimos seis meses. E agradecer a CAPES também, parte dos reagentes usados foram comprados pelo mestrado com recursos da CAPES.

REFERÊNCIAS

Ajith PS, Lakshmidevi N (2010) Effect of volatile and non-volatile compounds from Trichoderma spp. against Colletotrichum capsici incitant of Anthracnose on Bell peppers. Nat. and Sci., 8: 265- 268.

Amin F et al. (2010) Effect of volatile metabolites of Trichoderma species against seven fungal plant pathogens in-vitro. J. Phytolog., 2: 34-37.

Bettiol W (2008) Métodos Alternativos para o Controle de Doenças de Plantas. In: Bettiol W, Ghini R, Morandi MAB, Stadnik MJ, Kraus U, Stefanova M, Prado AMC (2008) Controle biológico de doenças de plantas na America Latina. FEALQ. 303-331 p.

Bonett LP et al. (2013) Biocontrole in Vitro de Colletotrichum musae por Isolados de Trichoderma spp. Uniciências, 17: 5-10.

Callou MJA, Miranda RCM, Feitosa TR, Arruda FVF, Nascimento MS, Gusmão ND (2012) Avaliação da atividade antimicrobiana da casca de Mimosa caesalpiniifolia Benth (Sábia). Scientia plena 8: 1-7.

Catão RMR, Barbosa-Filho JF, Lima EOL, Pereira MSVP, Silva MAR, Arruda TA, Aantunes RMP (2010) Avaliação da atividade antimicrobiana e efeitos biológicos de riparinas sobre eliminação de resistência a drogas em amostras de Staphylococcus aureus. Revista Brasileira de Ciências Agrárias 42: 9-14.

Corabi-Adell C, Lucon CMM & Koike CM (2002) Biodiversidade do gênero Trichoderma no estado de São Paulo – aspectos enzimáticos e potencial biocontrolador. Arquivos do Instituto Biológico 69: 158-191.

Dennis C, Webster J (1971a) Antagonistic properties of speciesgroups of Trichoderma. I - Production of non-volatile antibiotics. Trans. Brist. Mycol. Soc., 57: 25-39.

Eloff JN (1998) A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration ofplant extracts for bacteria. Planta Med 64: 711-713.

FAO (2011) FISHSTAT PLUS: Universal software for fishery statistical time series. Version 2.3.2000. Rome: Fisheries Department Fishery Information, Data and Statistics Unit.
FAO (2012). Food and Agricultural Organization. Disponível em: Acesso em: 01 agostos de 2015.

Foertes FO, Silva ACF, Almança MAK, Tedesco SB (2007). Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de Eucalyptus sp. por Trichoderma spp. Rev. Árvore 31:221-228.

Fravel DR (2005) Commercialization and implementation of biocontrol. Ann. Rev. Phytopathol. 43: 337-359.

Ganga RMD (2002). Resultados parciais sobre o comportamento de seis cultivares de banana (*Musa* spp) em Jaboticabal. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 17. Belém. Anais... Belém EMBRAPA/DDT, 2002, CD-ROM.

Gauch F (1996) Micoparasitismo de espécies de Pythium com oogônio equinulado e o controle de Pythium ultimum Trow causador de tombamento de mudas, em hortaliças. 94 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília.

Larralde-Corona CP, Santiago-Mena MR, Sifuentes-Rincon AM, Rodriguez-Luna IC, Rodriguez- Perez MA, Shirai K, Narvaez-Zapata JA (2008) Biocontrol potentialand polyphasic characterization of novel native Trichoderma strains against Macrophomina phaseolina isolated from sorghum and common bean. Applied Microbiology and Biotechnology, Münster, 80: 167-177.

Lima LC, Dias MSC, Castro MV, Ribeiro Júnior PM, Silva EB (2007) Controle da antracnose e qualidade de mangas (*Mangifera indica* L.) cv. haden, após tratamento hidrotémico e armazenamento refrigerado em atmosfera modificada. Ciência e Agrotecnologia, 31: 298-304.

Louzada GAS *et al.* (2009) Potencial antagônico de Trichoderma spp. originários de diferentes agroecossistemas contra Sclerotinia sclerotiorum e Fusarium solani. Biot. Neotr., 9: 145-149.

Menten JOM (1976) Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de Macrophomina phaseolina (Tass.) Goid. “in vitro”. Fitopat Bras., 1: 57-66.

Michereff SJ & Barros R (Eds) Proteção de Plantas na Agricultura.

Mohamed HALA, Haggag WM (2006) Biocontrol potential of salinity tolerant mutants of Trichoderma harzianum against Fusarium oxysporum. Braz. J. Microbiol. 37(2):181-191. Phytopathology 62: 442-447.

Nolasco CA, Salomão LCC, Cecon PR, Bruckner CH, Rocha (2008) A Qualidade pós-colheita de banana 'Prata' tratada por hidrotermia. Ciência e Agrotecnologia, 32: 1575-1581.

Oliveira ES (2009) Extratos e óleos essenciais vegetais, microorganismos antagonistas, indutores de resistência e produtos antissépticos no controle da antracnose em banana. Fortaleza: UFC.

Perrier X, Bakry F, Carreel F et al. (2009) Combining biological approaches to shed light on the evolution of edible bananas. Ethnobotany Research and Applications, Fort Worth, v.7, p.199-216. Phytother Res 18: 713-717.

Rosa et al. (2013) Coniochae taligniaria: antifungalactivity of the crypticendophytic fungus associated with autotrophic tissue cultures of the medicinal plant *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae).

Silva KS et al. (2008) Atividade antagônica in vitro de isolados de Trichoderma spp. ao fungo Phytophthora citrophthora. Semina Ciênc. Agrar., 29: 749-754.

Silva KS, Rebouças TNH, Bomfim MP, Silva DS, São José AR, Benett CGS (2008) Atividade antagônica *in vitro* de isolados de *Trichoderma* spp. ao fungo *Phytophthora citrophthora*. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, 29: 749-754.

Silveira CS, Pessanha CM, Lourenço MCS, Neves Júnior I, Menezes FS, Kaplan MAC (2005) Atividade antimicrobiana dos frutos de *Syagrus oleracea* e *Mauritia vinifera*. Rev Bras Farmacogn 15: 143-148.

Simié A, Sokovic M, Ristic M, Grujic-Jovanovic S, Vukojevic J, Marin P (2004) The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities.

Siqueira ADD (2004) Saprolegniose: doença fúngica em peixes. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos. São João da Boa Vista, SP. Disponível em http://64.233.161.104/search?q=cache:OthaIRV5ze0J:www.feob.br/novo/cursos/cbiologicas/monografias/Monografia%2520-%2520Amanda%2520Danziger%2520Darr%C3%B3z%2520Siqueira.pdf+saprolegniose&hl=pt-BR&gl=br&ct=clnk&cd=3. Acessado em: 05 de maio de 2015.

Soares WL (2010) Uso dos agrotóxicos e seus impactos à saúde e ao ambiente: uma avaliação integrada entre a economia, a saúde pública, a ecologia e a agricultura. 2010. Tese (Doutorado) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro.
Souza A, Medeiros AR, Souza AC, Wink M, Siqueira IR, Ferreira MB, Fernandes L, Hidalgo MPL, Torres ILS (2011) Avaliação do impacto da exposição a agrotóxicos sobre a saúde de população rural Vale do Taquari (RS, Brasil). Ciência & Saúde Coletiva, 16: 3519-3528.

Tuite J (1969) Plant pathological methods: fungi and bacteria. Mineapolis: Burgess, 239p.

Ventura JÁ, Hinz RH (2002) Controle das doenças da bananeira. In: Zambolin L, Vale FXR, Monteiro AJA, Costa H. Controle de doenças de plantas fruteiras. Viçosa, MG: UFV, p.839-926.

West P (2006) Saprolegnia parasitica, an oomycete pathogen with a fi shy appetite: new challenges for an old problem. Mycologist, v.20, p.99-104. Disponível em: Acessado em: 17 abr. 2012. doi: 10.1016/J.mycol.2006.06

CAPÍTULO 14

CARACTERIZAÇÃO DO FLUXO SUINÍCOLA NO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS DO MARANHÃO NOS ANOS DE 2016 A 2018.

Dionisia Santos Carvalho Neta
Graduanda em Medicina Veterinária
Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI.
Endereço: Av. Lourenço Vieira da Silva, n° 1000- Jardim São Cristovão, São Luís- MA, Brasil. CEP 65055-310
E-mail: dionisianeta2009@hotmail.com

Margarida Paula Carreira de Sá Prazeres
Doutoranda em Defesa Sanitária Animal
Fiscal Estadual Agropecuário da Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão. Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI.
Endereço: Av. Lourenço Vieira da Silva, n° 1000- Jardim São Cristovão, São Luís- MA, Brasil. CEP 65055-310
E-mail: guidaprazeres@hotmail.com

Lauro de Queiroz Saraiva
Doutorando em Defesa Sanitária Animal
Fiscal Estadual Agropecuário da Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão. Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI,
Endereço: Av. Lourenço Vieira da Silva, n° 1000 - Jardim São Cristovão, São Luís- MA, Brasil. CEP 65055-310
E-mail: lauroqueirozaged@hotmail.com

Helen Muriel Barros Barbosa
Graduanda em Medicina Veterinária
Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI,
Endereço: Av. Lourenço Vieira da Silva, n° 1000, Jardim São Cristovão, São Luís/MA, Brasil. CEP 65055-310
E-mail: helen.murielbarbosa@hotmail.com

Luciano Santos da Fonseca
Professor Adjunto I do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual da Região Sul Tocantina do Maranhão/UEMASUL/Campus Imperatriz/MA.
Programa de Pós-Graduação Profissional em Defesa Sanitária Animal PPGPDSA/UEMA/ Campus São Luís- MA.
Endereço: R. Godofredo Viana, 1300 – Centro, Imperatriz/MA CEP: 65901- 480
E-mail: lucianofonseca76@gmail.com

Viviane Correa Silva Coimbra
Doutora em BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA - REDE BIONORTE
Instituição: Universidade Federal do Amazonas (UFAM)
Universidade Estadual do Maranhão, Dep. de Patologia. Cidade Universitária Paulo VI.
Endereço: Av. Lourenço Vieira da Silva, nº 1000, Jardim São Cristovão, São Luís/MA.
E-mail: vivianecorrea@yahoo.com

Welligton Borges da Silva
Doutor em Medicina Veterinária
Instituição: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, campus de Botucatu, São Paulo
Endereço: AV. Getúlio Vargas, 611, Centro, 65901-450 - Imperatriz, MA - Brasil
E-mail: prof.welligtonborges@gmail.com

RESUMO: O setor suinícola possui grande importância no mundo, principalmente no Brasil, o que torna importante o cadastramento das propriedades e fiscalização do trânsito suídeo na implementação das ações de agências de defesa agropecuária. Objetivou-se com o estudo caracterizar o fluxo suinícola do município de São Luís, Maranhão. A pesquisa é do tipo descritiva, por meio do quantitativo de propriedades, sexo dos produtores, quantidade de suínos, tipo de exploração agropecuária, emissões de guia de trânsito animal (GTA) e as finalidades disponibilizados pelo banco de dados do Sistema de Integração Agropecuário (SIAPEC) da Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão, nos anos de 2016 a 2018. Os resultados demonstraram que a suinocultura em São Luís/MA progrediu nos cadastramentos ao longo dos três anos estudados, assim como, apresentou uma exploração comercial, com predomínio do sexo masculino nos cadastros durante os dois últimos anos analisados. Em relação ao fluxo de entrada intermunicipal em São Luís, aumentaram as emissões de GTA para o transporte com finalidade de abate, cria e engorda, destacando-se o ano de 2018. Houve poucos registros de movimentação interna em São Luís, enquanto o trânsito interestadual apresentou quantitativos melhores de fluxo de entrada e saída no Maranhão quando comparado ao fluxo intermunicipal, porém sem registros de destinação para São Luís. Conclui-se que a exploração agropecuária de suídeos no município de São Luís/MA tem potencial para favorecer a economia do estado, visando a importância do Serviço Veterinário Oficial em trabalhar as políticas de capacitação do servidor e educação sanitária aos suinocultores com vistas ao aperfeiçoamento do cadastramento e melhor caracterização do sistema produtivo, para melhor planejamento das políticas públicas voltadas ao desenvolvimento do setor.

PALAVRAS-CHAVE: cadastro de propriedades, defesa agropecuária, suínos, trânsito animal

ABSTRACT: The swine sector has great importance in the world, mainly in Brazil, or it becomes important or the registration of properties and traffic inspection supposedly implemented by the actions of agricultural defense agencies. The objective of this study was to characterize the pig flow in the municipality of São Luís, Maranhão. The research is descriptive, through the quantitative of properties, sex of producers, amount of pigs, type of agricultural exploitation, emissions of animal transit guide (GTA) and the purposes provided by the database of the Agricultural Integration System State Agency for Agricultural Defense of Maranhão, from 2016 to 2018. The results showed that pig farming in São Luís / MA progressed in the registrations over the three years studied, as well as presented a commercial exploitation, with predominance of the male gender in the records during the last two years analyzed. Regarding the intercity inflow into São Luís, GTA emissions increased for transportation for slaughter, rearing and fattening, especially 2018. There were few records of internal movement in São Luís, while interstate traffic presented better quantities of inlet and outflow in Maranhão when compared to the intermunicipal flow, but without records of

destination for São Luís. It is concluded that the agricultural exploitation of swine in the municipality of São Luís / MA potential to favor the economy of the state, aiming at the importance of the Official Veterinary Service in working the policies of qualification of the server and health education for pig farmers with a view to improving the registration and better characterization of the productive system, for better planning of public policies aimed at development of the sector.

KEYWORDS: animal transit, agricultural defense, property registration, swine.

1. INTRODUÇÃO

A atividade suinícola no Brasil está em constate desenvolvimento, apresentando bons desempenhos zootécnicos. Um dos resultados do crescimento da suinocultura é o quantitativo de matrizes na criação e a quantidade de suínos abatidos por ano, onde nota-se o potencial do país em fornecer ao mercado consumidor proteína suína de qualidade a um menor custo (COSTA JUNIOR *et al*., 2015).

O Maranhão é o terceiro maior produtor do Nordeste (IBGE, 2019), porém, a atividade suinícola do estado ainda é baixa. O avanço ainda depende do implemento de tecnificação e de um manejo sanitário mais eficaz (ROCHA *et al*., 2018). A Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão executa o controle de sanidade da atividade do estado, e utiliza como ferramenta o Sistema de Integração Agropecuária Informatizado/SIAPEC, que armazena as principais informações de propriedades cadastradas (AGED, 2015).

A Portaria n° 595, de 20 de julho de 2016, determina as diretrizes gerais que constitui o Programa Estadual de Sanidade Suídea do Maranhão, abordando conceitos fundamentais para o entendimento do cadastramento das propriedades com criação de suínos. Descreve também as características que se enquadra uma exploração de suídeos com base na quantidade de animais, classificada em criação com finalidade comercial ou de subsistência (MARANHÃO, 2016).

O controle no trânsito de suídeos é fundamental para o evitar a entrada de agentes patogênicos em uma região. A movimentação de suídeos para qualquer finalidade, é favorável ao crescimento econômico de uma região, porém é o principal meio de disseminação de doenças, por isto, torna-se importante trabalhar com biosseguridade no transporte dos suínos (OLIVEIRA *et al*., 2013). Diante do exposto, este estudo apresenta as características sobre a exploração pecuária e o trânsito de suídeos, tendo por objetivo principal, caracterizar o fluxo suinícola do município de São Luís do Maranhão nos anos de 2016 a 2018, afim de ressaltar a importância da caracterização da suinocultura do município para mais pesquisas sobre o assunto pela escassez de dados sobre o assunto.

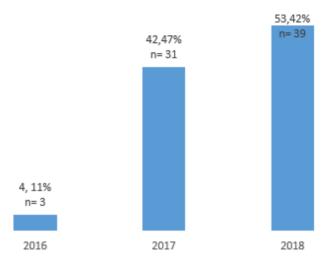
2. METODOLOGIA

Este estudo é do tipo descritivo realizado por meio de levantamento de dados no SIAPEC da AGED/MA. Foi analisado dados da exploração agropecuária de produtores cadastrados no ano de 2016 a 2018 e o trânsito de suínos intermunicipal e interestadual. As variáveis fornecidas para análises foram o quantitativo de propriedades, sexo dos produtores, quantidade de suínos, tipo de exploração pecuária, emissões de guia de trânsito animal - GTA's, e as finalidades do trânsito. Os dados obtidos foram organizados e processados no programa computacional Microsoft Excel, versão 2010. Os resultados foram tabulados e convertidos em gráficos e tabelas para sintetizar e reunir informações de modo organizado e conciso.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando os dados extraídos do Sistema de Integração Agropecuário - SIAPEC com relação as propriedades com exploração pecuária de suínos no município de São Luís, constatou- se que 2016 foi um ano com menor registro de cadastramentos de propriedades com suínos em relação aos dois anos posteriores. Apenas três cadastros foram registrados. Em 2017 foram realizados 30 cadastros de produtores e 1 de instituição e em 2018, 38 cadastros de produtores e 1 de empresa (Figura 1).

No ano de 2015, foi verificado quantidade significativa quando comparado aos outros anos analisados totalizando 96 cadastros. Quando comparado aos três anos estudados, os resultados encontrados foram menores. Isso pode estar relacionado com a implantação do sistema SIAPEC no ano de 2015, devido a mais ações para avaliar a eficácia do uso do sistema na instituição. A diminuição dos anos posteriores quando comparado a 2015, não está relacionada com a eficácia do sistema, mas, com possíveis falhas na continuação de ações diretas aos produtores.

Figura 1. Quantitativo de propriedades cadastradas no Sistema de Integração Agropecuária da AGED/MA no município de São Luís- MA entre os anos de 2016 a 2018

Fonte: Autor (2019)

O restabelecimento da quantidade de cadastros nos últimos anos, pode ser reflexo do aumento da demanda do programa em nível estadual, por meio de capacitação do Serviço Veterinário Oficial (SVO), e intensificação na educação sanitária aos produtores quanto a sanidade e trânsito de suínos no estado, resultando no funcionamento do sistema. Em estudo de Carvalho *et al*., (2012) existem convergências com os dados apresentados, em que os pesquisadores mencionam a importância do sistema de informação para o controle sanitário, enfatizando o cadastramento e uma base de dados completa sobre o rebanho, para assim, obter controle sanitário e evitar focos de doenças de impacto na suinocultura

Analisando o sexo dos produtores, (Figura 2), prevaleceu o sexo masculino. Já nos anos 2017 e 2018 houve cadastros de produtores do gênero feminino, porém, apresentou um quantitativo inferior quando comparado ao gênero masculino. Estudos em Mossoró de Leite *et al*. (2014), relataram a predominância masculina na suinocultura, corroborando com os dados encontrados neste estudo, que mesmo com o avanço da inclusão da mulher na atividade suinícola, ainda é prevalente no município o sexo masculino. Melo *et al*. (2015), também observaram resultados similares aos encontrados no município de São Luís/MA, onde foi verificado que dos 20 criadores entrevistados, cerca de 60 % correspondiam ao sexo masculino. Entretanto, Gomes *et al*. (2018) demonstraram que a atividade suinícola na Cidade de São Luís/MA é predominantemente feminina (n= 8; 80 %), divergindo dos resultados

deste estudo, evidenciando a inserção gradual do sexo feminino na atividade suinícola no município.

Figura 2. Sexo dos produtores cadastrados no Sistema de Integração Agropecuária da AGED/MA nos anos de 2016 a 2018

Fonte: Autor (2019)

Em relação ao tipo de exploração agropecuária, o estudo revelou que a suinocultura em São Luís é comercial, com base na quantidade de animais que a propriedade possui. No ano de 2016, verificou-se propriedades com 26 a 117 suínos. Segundo a Portaria nº 595, de 20 de julho de 2016, a criação de suínos com população maior que 15 animais, sejam eles adultos ou leitões, independente do grau de tecnificação, estrutura física, manejo, alimentação, condição higiênico sanitária e assistência médico veterinária, é classificada como estabelecimento comercial (MARANHÃO, 2016).

No ano de 2017, a quantidade de suínos no município progrediu, com um total de 1045 animais, em rebanhos com 1 a 262 suínos. Em 2018 o total foi de 17429 mil animais, devido ao cadastro de uma agroindústria no município. Em trabalho de Gomes *et al*., (2018) no município de São Luís/MA, encontraram o quantitativo de suínos variando entre 15 a 250 animais, com mais 55 % das propriedades contendo menos de 100 suínos, divergindo com este estudo. Também, no estudo de Marinho (2009) no Semiárido Sergipano, observou-se resultados semelhantes com os resultados deste trabalho, pois nas propriedades rurais analisadas pelo autor, foi encontrado um quantitativo de 30 a 500 suínos em criações de subsistência, com baixo investimento econômico e técnico, evidenciando que criações de subsistência

de baixa tecnologia também podem ser inseridas na comercialização, também participando efetivamente da economia local.

Embora a suinocultura do Nordeste seja definida por Silva Filha *et al*., (2008) como tradicional, relacionada a agricultura familiar e subsistência, no município de São Luís, os dados divergiram, evidenciando o crescimento da suinocultura em âmbito comercial mesmo com a forte presença de criações pouco assistidas. Segundo Coelho *et al*., (2014), apesar de haver uma visão ainda retrógrada da criação de subsistência, a mesma deve ser interpretada não somente como produção para autoconsumo, mas também como um conjunto de fatores que propiciam a manutenção das famílias no meio rural.

A suinocultura em São Luís durante 2016 a 2018 mostrou-se comercial independente. Segundo Poeta *et al*. (2014), a exploração é classificada como de subsistência, quando os criatórios são destinados a subsistência familiar, com consumo próprio sem nenhum vínculo industrial; como comercial, caracterizada por estar relacionada com a agroindústria e como comercial independente, quando o produtor é responsável pela comercialização dos animais criados pelo próprio produtor. Para Miele & Waquil, (2007) a suinocultura de subsistência, por possuir acesso ao mercado e distribuição, pode ser considerada também uma produção independente. Sendo assim, São Luís possui criações que se enquadram nas três classificações.

Analisados os dados de trânsito para entrada intermunicipal em São Luís, (Tabela 1), observou-se emissões de 58 GTAs no ano de 2016 para 5 municípios com destino a São Luís, recebendo 4274 suínos. Já em 2017, os números mantiveram-se estagnados, apresentando os mesmos resultados do ano anterior sem redução ou elevação no trânsito de suídeos. Em 2018, foram emitidas 8 GTA's e a quantidade de municípios que transportaram suínos aumentou, além de haver 11795 de animais entrando no município.

Tabela 1. – Fluxo de entrada intermunicipal de suínos para São Luís nos anos de 2016 a 2018, demostrando quantidade emissões de GTA, de municípios e animais.

Dados do trânsito intermunicipal entrada em São Luís	**2016, n**	**2017, n**	**2018, n**	**2016%**	**2017%**	**2018%**
GTAS emitidas	58	58	8	46,8%	46,8%	6,4%
Quantidade de municípios	5	5	8	27,8%	27,8%	44,4%
Quantidade de animais	4274	4274	11795	21%	21%	58%

Fonte: Autor (2019)

Os municípios que enviaram suínos durante os três anos para São Luís foram, Anajatuba, Bacurituba, Balsas, Peri Mirim, São Bento, Barreirinhas, Bom Jardim, Paraibano, Peritoró, São João Batista, São José de Ribamar (Figura 3 e 4). Balsas destacou-se por transportar 11157 suínos com destinação a São Luís durante os três anos estudados. Isso deve-se a concentração da atividade suinícola no município de Balsas/MA.

Figura 6. Caracterização Espacial do Trânsito Intermunicipal de suínos com origem (egresso) de São Luís/MA, 2016 e 2017.

Figura 7. Caracterização Espacial do Trânsito Intermunicipal de suínos com origem (egresso) de São Luís/MA, 2018.

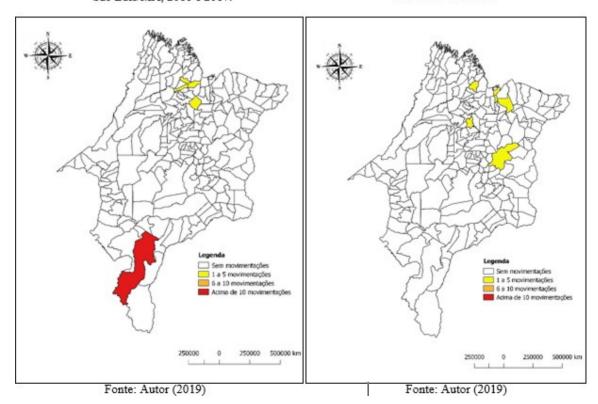
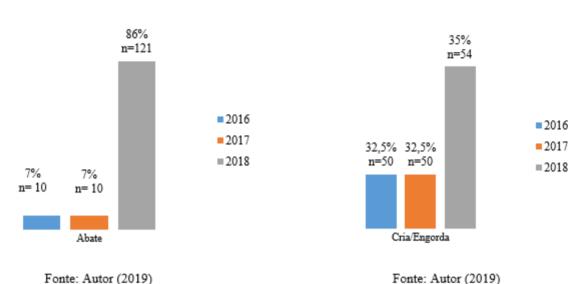
Fonte: Autor (2019) | Fonte: Autor (2019)

Dentre as finalidades de emissão da documentação de trânsito para entrada no município nos três anos analisados, estão abate, cria e engorda. A finalidade de abate aparece com mais GTAs no ano de 2018, com 121 emissões (Figura 4). Para cria/engorda verificaram-se resultados próximos nos três anos, mas ainda prevalecendo o ano de 2018 com mais emissões (Figura 5).

Figura 4. Emissões de GTAs com finalidade de abate entre os anos 2016 a 2018 para a entrada em São Luís/MA

Figura 5. Emissões de GTAs com finalidade de cria/engorda entre os anos 2016 a 2018 para a saída de São Luís/MA

Fonte: Autor (2019)

Fonte: Autor (2019)

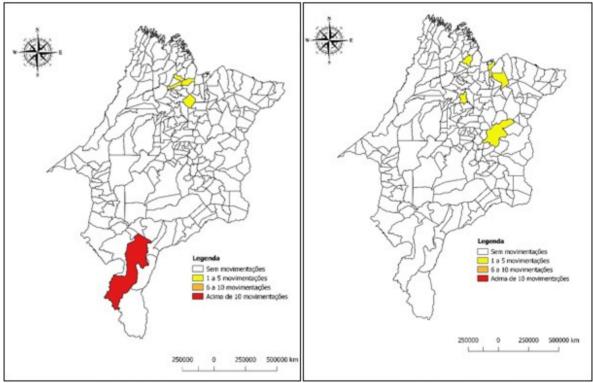
O movimento de suínos no período de 2016 a 2018 dentro de São Luís foi baixo, registrados somente 9 GTAs para a circulação de 96 suínos. Em relação ao trânsito de São Luís em 2016 e 2017 para outros municípios, observou a saída para Anajatuba, Cururupu, Itapecuru Mirim, Penalva e Peritoró (Figura 6). Foram emitidas 10 guias para saída de 154 suínos com finalidade de cria e engorda, exposições ou feiras. No ano posterior, os municípios que receberam os animais de São Luís, foram, Axixá, Bequimão, Codó, Morros, São José de Ribamar e Vitoria do Mearim (Figura 7), com finalidade somente de cria e engorda, sendo emitidas 5 guias para a saída de 21 suínos (Tabela 2). A pouca movimentação de suínos dentro do município é um reflexo da cadeia produtiva baixa ou ineficiência na fiscalização.

Tabela 2. Fluxo de saída intermunicipal de suínos de São Luís nos anos de 2016 a 2018, demostrando quantidade emissões de GTA, de municípios e animais.

Dados trânsito intermunicipal Saída de São Luís	2016, n	2017, n	2018, n	2016%	2017%	2018%
GTAS emitidas	10	10	5	40%	40%	20%
Quantidade de municípios	5	5	6	31,2%	31,2%	37,6%
Quantidade de animais	154	154	21	46,8%	46,8%	6,4%

Fonte: Autor (2019).

Figura 6. Caracterização Espacial do Trânsito Intermunicipal de suínos com origem (egresso) de São Luís/MA, 2016 e 2017.

Figura 7. Caracterização Espacial do Trânsito Intermunicipal de suínos com origem (egresso) de São Luís/MA, 2018.

Fonte: Autor (2019)

Fonte: Autor (2019)

Notaram-se possíveis efetivações nas ações de fiscalização local, refletindo em resultados positivos na suinocultura do município. O aumento da movimentação entre os municípios também favorece a economia no setor suinícola do estado, porém, deve-se atentar aos riscos que o transporte animal não fiscalizado pode trazer a economia local. As falhas na fiscalização favorecem a entrada de enfermidades. Segundo Coelho *et al*., (2008), caso um animal esteja infectado e

seja transportado para outro município, ele torna-se fonte de infecção na nova localidade. Ainda que a permanência seja temporária, há risco de surtos. Isto ressalta a importância da efetivação da fiscalização no transporte animal, tornando-se fundamental para o progresso de ações de defesa agropecuária.

Analisando o fluxo interestadual de entrada, o território maranhense recebeu em 2016, de Minas Gerais, Paraíba, Paraná, Pernambuco e Mato Grosso, 201 suínos com finalidade de cria/engorda e reprodução. Pernambuco foi o estado que mais transportou suídeos para o Maranhão. Houve maior fluxo no mês de fevereiro. Em 2017, o Maranhão recebeu 118 suínos principalmente de Mato Grosso, em seguida Minas Gerais e Paraná. Houve maior fluxo de entrada no mês de novembro com finalidade de cria/engorda e reprodução (Tabela 3).

Tabela 3. Movimentação interestadual de entrada de suínos no estado do Maranhão entre 2016 a 2018, demostrando quantidade de emissões de GTA, de municípios, animais e finalidade.

Dados trânsito interestadual Entrada no Maranhão	**2016, n**	**2017, n**	**2018, n**	**2016%**	**2017%**	**2018%**
GTAS emitidas	13	6	25	29,6%	13,6%	56,8%
Quantidade de estados	5	3	6	35,7%	21,5%	42,8%
Quantidade de animais	201	118	421	27,1%	16%	56,9%
Quantidade de finalidades	2	2	3	28,5%	28,5%	43%

Fonte: Autor (2019).

No ano posterior, foram emitidos 25 GTA's, para a entrada de 421 suínos, com finalidade para cria/engorda, reprodução e exposição. Os estados que enviaram suínos foram Minas Gerais, Mato Grosso, Pernambuco, Paraná, Piauí e Rio Grande do Norte, com maior fluxo no mês de julho (Tabela 3). Em estudo de Oliveira et al., (2013) observaram a continuação da relação comercial de Minas Gerais com o Maranhão, que desde 2013 vêm transportando suínos para o Estado. Assemelham-se também os registros deste estudo quanto ao maior fluxo de saída e entrada mensal predominante no segundo semestre, convergindo com os resultados encontrados na pesquisa de Oliveira *et al*., (2013), que registraram fluxo maior nos últimos meses do ano, segundo estes autores, o resultado está associado ao consumo da carne suína em datas festivas de final de ano, o que leva a mais abate e reposição de animais para engorda.

Analisados os dados de trânsito de saída interestadual no Maranhão, houve registro de 11 emissões de GTAs em 2016 para o transporte de 189 suínos até Piauí e Pará, com finalidade de cria/engorda e feiras de animais. O maior movimento foi no mês de junho, com saída de 66 suínos. Em 2017, foram transportados 63 suínos até os estados do Pará e Piauí, com finalidade de cria/engorda, e o mês com maior fluxo de saída foi novembro. Nos dois anos, Piauí foi o estado que mais recebeu suínos do Maranhão. Em 2018 ocorreu maior movimentação de suínos distribuídos para o Pará, Piauí, Tocantins e Ceará (Tabela 4), com finalidade de cria/engorda. Os meses de agosto e setembro foram os que tiveram maior fluxo de saída, principalmente para o Piauí.

Tabela 4. Movimentação interestadual de saída de suínos no estado do Maranhão entre 2016 a 2018, demostrando quantidade de emissões de GTA, de municípios, animais e finalidade.

Dados trânsito interestadual Saída do Maranhão	**2016, n**	**2017, n**	**2018, n**	**2 016%**	**2017%**	**2018%**
GTAs emitidas	11	7	12	36,6%	23,3%	40%
Quantidade de estados	2	2	4	25%	25%	50%
Quantidade de animais	189	63	488	25,5%	8,5%	65,9%
Quantidade de finalidades	2	1	1	50%	25%	25%

Fonte: Autor (2019)

Não houve durante os três anos analisados, nenhuma emissão interestadual de GTA para São Luís e também saindo do município para outro estado. Isto pode estar relacionado ao lento desenvolvimento da atividade suinícola no município. Observa-se quantitativos maiores de fluxo de saída e entrada no Estado quando comparado ao intermunicipal, refletindo no avanço gradual no setor.

Os quantitativos das variáveis estudadas no Maranhão foram baixos quando comparado a de outros Estados. Isso é um reflexo da pouca tecnificação na suinocultura do estado, a falta de informações da população sobre a carne suína e a forte presença da suinocultura na agricultura familiar com criação extensiva, o que resulta em lento desenvolvimento do setor no município e no Estado.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o desenvolvimento do setor suinícola do município depende de uma eficácia na fiscalização de trânsito, do controle sanitário e da conscientização dos

produtores sobre as medidas corretas na criação de suídeos. Como a atividade suinícola de São Luís mostrou-se comercial independente, pressupõe-se potencial para o crescimento econômico do estado. Logo, torna-se necessário que o Serviço Veterinário Oficial trabalhe com as políticas de capacitação do servidor e educação sanitária aos suinocultores com vista ao aperfeiçoamento do cadastramento e melhor caracterização do sistema produtivo, para melhor planejamento das políticas públicas voltadas ao desenvolvimento do setor.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA ESTADUAL DO MARANHÃO- AGED. **Treinamento sobre o Sistema de Integração Agropecuária Informatizado- SIAPEC**. 2015. Disponível em: <http://www.aged.ma.gov.br>. Acesso em:21/06/2019

CARVALHO, L.F.R.; MELO, C.B.; HADDAD, J.P.A. Cadastro da exploração pecuária e o controle do trânsito de bovídeos considerando a saúde animal no Brasil: uma breve revisão. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v.34, n.1, p.19-26, 2012.

COELHO, D. C.; FABRINI, J. E. Produção de subsistência e autoconsumo no contexto de expansão do agronegócio. **Revista Nera**. v.17 n.25, p.71-87, 2014.

COELHO, F. C., CRUZ, O. G.; CODEÇO, C. T. Epigrass: a tool to study disease spread in complex networks. **Source Code for Biology e Medicine**. v. 3, n. 1, p. 1-10, 2008.

COSTA JÚNIOR, M. B.; AROUCA, C. L. C.; MACIEL, M. P.; AIURA, F. S.; FONTES, D. O.; ROSA, B.O.; LIMA, C. A.; FERNANDES, I.S. Torta da polpa da macaúba para suínos em terminação. **Revista brasileira de saúde e produção animal**. v.16, n.2, p.325-336 abr./jun 2015.

GOMES, M. S., MENDES, B.O., MELO, T. L., LIMA, R. S., COSTA, C. J. P., SOUSA, S. R. S., BEZERRA, D. C.; BEZERRA, N. P. C. Caracterização de pequenas criações de suínos na cidade de São Luís – MA: aspectos socioeconômicos e manejo nutricional. In: 28° Congresso Brasileiro de Zootecnia, Goiânia, MG. *Anais.* n. 28, p. 1124-1129, 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE. **Produção da Pecuária Municipal 2018**; Rio de Janeiro: IBGE, 2019. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/>. Acesso em: 20/09/2019.

LEITE, A. I. Caracterização da suinocultura em Mossoró, Rio Grande do Norte: aspectos sanitários e riscos de zoonoses. xiv, 125 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, 2014.

MARANHÃO. Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão**. Portaria nº 595, de 20 de julho de 2016**. Diretrizes gerais do programa estadual de sanidade suídea. **[Diário Oficial da União**] 2016.

MARINHO, G. L. O. C. Caracterização da atividade suinícola desenvolvida pelos produtores familiares de queijo em Nossa Senhora da Glória, semiárido sergipano. Dissertação (M.Sc.). Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2009.

MELO, C. G. F., LOUZEIRO, P. P., BARBOSA, S. N., TAVARES, T. L., PINHEIRO, C. J., LIMA, R.S., ALVES, Y. M.; CUNHA, D. S. Dia de Campo em Suinocultura. IV Semana Acadêmica de Ciências Agrárias. Workshop de Pós-Graduação das Ciências Agrárias. São Luís/MA. *Anais*. n.2, p. 2-3, 2015.

MIELE, M.; WAQUIL, P. D. Estrutura e dinâmica dos contratos na suinocultura de Santa Catarina: um estudo de casos múltiplos. **Estudos Econômicos.** São Paulo, v.37, n.4, p.817-847, outubro-dezembro, 2007.

OLIVEIRA, C.S.F.; GONÇALVES, J.P.M.; UTSCH, J.B.; NICOLINO, R.R.; SILVA, M.X.;

HADDAD, J.P.A. Trânsito de suídeos em Minas Gerais, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**.v.65, n.5, p.1313-1320, 2013.

POETA, A. P. S., NETO, W. S., VERGARA, E. N., CAVAGNI, G. M., CORREA, A. M. R.; SANTOS, D. V. Panorama da suinocultura no Rio Grande do Sul. **Informativo Técnico da secretaria estadual de agricultura, pecuária e agronegócio**. v.05 n.7, 11p, 2014.

ROCHA, S. F.; OTTATI, A. M. A. A.; CAMPOS, R. T. Produção de caprinos e suínos nos municípios de São Luís, Paço do Lumiar e São José de Ribamar**. Revista de política agrícola**. Ano XXVII, n. 1, p.22-36, 2018.

SILVA FILHA, O. L.; PIMENTA FILHO, E. C.; SOUZA, J. F.; OLIVEIRA, Â. S.; OLIVEIRA, R. J. F.; MELO, M.; MELO, L. M.; ARAÚJO, K. Â. O.; SERENO, J.R. B. Caracterização do sistema de produção de suínos locais na microrregião do Curimataú Paraibano. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v.9, n.1, p. 07-17, jan/mar, 2008.

CAPÍTULO 15

EFECTO DE LA ADICIÓN DE BACTERIAS NITRIFICANTES AUTÓCTONAS EN LA FORMACIÓN DE BIOFLOCOCS PARA LA MEJORÍA DE LA CALIDAD DEL ÁGUA DE CULTIVO DE ORGANISMOS ACUÁTICOS.

Jéssica Lucinda Saldanha da Silva
Doutora em Engenharia de Pesca pela Universidade Federal do Ceará Instituição: Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR)- UFC, Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico-FUNCAP.
Endereço: Av. da Abolição, 3207 - Meireles, CEP: 60165-081, Fortaleza-CE, Brasil
E-mail: jessicalucinda@hotmail.com

Marina Teresa Torres Rodríguez
Doutora em Ciências Marinhas Tropicais da Universidade Federal do Ceará Instituição: Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da UFC, Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico-FUNCAP.
Endereço: Av. da Abolição, 3207 - Meireles, CEP: 60165-081, Fortaleza-CE, Brasil
E-mail: marinatorresrodriguezm@gmail.com

Oscarina Viana de Sousa
Doutora em Ciências/ Microbiologia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro Instituição: Docente do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará
Endereço: Av. da Abolição, 3207 - Meireles, CEP: 60165-081, Fortaleza-CE, Brasil
E-mail: oscarinaviana@hotmail.com

RESUMEN: La intensificación de los sistemas de cultivos acuícolas ocasiona el acumulo de materia orgánica y compuestos nitrogenados, conduciendo al deterioro de la calidad del agua y las pérdidas zootécnicas de los animales confinados. Para la solución de estos problemas se ha aplicado la tecnología de bioflocos, proporcionando un entorno bioseguro. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el proceso de formación de flocos a partir de la adición de un consorcio de bacterias nitrificantes autóctonas y su posterior desarrollo en un sistema de cultivo acuícola. El trabajo fue desarrollado en dos etapas: Formación de bioflocos en el laboratorio y posterior aplicación del biofloco domesticado en una granja de cultivo. Se determinaron variables físico-químicas, monitoreo microscópico de los flocos y análisis microbiológico. Se pudo observar un aumento y estabilización en la cantidad de agregados microbianos con la adición de bacterias nitrificantes en relación con el biofloco espontáneo *in vitro*. Fue detectado un aumento en la cuantificación de bacterias heterotróficas y sólidos sedimentables en la primera semana de inoculación en la granja de cultivo. Después de 20 días de cultivo, fue posible observar una disminución en el amonio, mientras que las concentraciones de nitrito solo se estabilizaron después de 100 días de cultivo. Las tilapias presentaron una supervivencia mayor del 90 % y un incremento de 1.83 g/día. Fue verificada la eficiencia del proceso de formación de bioflocos inducidos con la utilización de un consorcio de bacterias nitrificantes autóctonas en el laboratorio y su aplicación en el cultivo de Tilapia.

PALABRAS-CLAVES: Variables físico-químicas, exopolysaccharide, antagonism, enzimas extracelulares.

ABSTRACT: The intensification of aquaculture farming systems causes or accumulates organic matter and nitrogenous composts, leading to deterioration of water quality and zootechnical losses of confined animals. To solve these problems, bioflocs technology has been applied, providing a biosecure environment. The objective of the present work was to evaluate the floc formation process from the addition of a consortium of autochthonous nitrifying bacteria and its subsequent development in an aquaculture system. The work was carried out in two stages: formation of bioflocs in the laboratory and subsequent application of the domesticated biofloc in a cultivation farm. Physico-chemical variables, microscopic monitoring of flocs and microbiological analysis were determined. An increase and stabilization in the amount of microbial aggregates could be observed with the addition of nitrifying bacteria in relation to the spontaneous biofloc in vitro. An increase in the quantification of heterotrophic bacteria and sedimentable solids was detected in the first week of inoculation in the culture farm. After 20 days of culture, it was possible to observe a decrease in ammonia, while nitrite concentrations only were stabilized after 100 days of culture. The 226xtrace showed a survival greater than 90% and na increase of 1.83 g / day. The efficiency of bioflocs formation process induced with the use of a consortium of autochthonous nitrifying 226xtracel in the laboratory and its application in the culture of Tilapia was verified.

KEYWORDS: Physico-chemical variables, exopolysaccharide, 226xtracelula, 226xtracelular enzymes.

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es el sector de la producción de alimento que viene creciendo día tras día en todo el mundo, supliendo el déficit causado por la disminución de las poblaciones pesqueras (FAO, 2018). Con el fin de suplir la demanda por pescado, son empleadas altas densidades de almacenamiento y alimentación artificial casi exclusiva, lo que genera uma mayor entrada de compuestos orgánicos y el aumento de nutrientes en el sistema de cultivo comprometiendo así, la calidad del agua (BENTZON-TILIA, 2016).

Una forma potencial de abordar la mejoría de los cultivos de organismos acuáticos, es la aplicación de la tecnología de los llamados ¨bioflocos¨, los que se desarrollan en la columna de agua de los viveros utilizando los nutrientes disponibles para el crecimiento y la replicación de los microorganismos participantes del sistema.

La gestión de la calidad del agua en los sistemas de cultivo aplicando la tecnología de ¨bioflocos¨ ("Biofloc Technology" – BFT), se basa en el desarrollo y control de la actividad microbiana intrínseca de los viveros, con renovación mínima o cero de agua (Avnimelech, 2007). Esto proporciona un ambiente de cultivo bioseguro, minimizando el intercambio de agua y la entrada de patógenos (AHMAD et al., 2017).

La tecnología de ¨bioflocos¨ es una técnica de cultivo ecológica basada en el uso de bacterias autóctonas de los sistemas de cultivo de los organismos acuáticos. Consiste en estimular el desarrollo de una microbiota predominantemente heterotrófica capaz de asimilar y transformar compuestos nitrogenados en proteína microbiana que actuará como suplemento alimentar para esos organismos (CRAB *et al*., 2012) en tanques de cultivo altamente aireados y fertilizados con fuentes de carbono (AVNIMELECH *et al*., 1989, AVNIMELECH, 2009, EMERENCIANO *et al*. 2013, MARTÍNEZ-CÓRDOVA *et al*., 2016).

Diferentes trabajos citan las ventajas del cultivo de organismos acuáticos con la utilización de la tecnología con bioflocos, la que beneficia el aumento del desempeño zootécnico de los organismos y fortalece el sistema inmunológico de los animales de cría, favorece la mejoría de la calidad del agua, además de disminuir la generación de efluentes una vez que el agua puede ser utilizada en varios ciclos productivos (AVNIMELECH, 2007, CRAB *et al*., 2012, CORREIA *et al*., 2014).

Las comunidades bacterianas que crecen en los sistemas de cultivo auxilian en la estructuración y formación de partículas resuspendidas (bioflocos) que son compuestos por microalgas, bacterias, agregados de materia orgánica particulada, protozoos y metazoos (CRAB *et al*., 2007).

Las bacterias constituyen el principal componente de un biofloco, siendo relatados como microorganismos productores de substancias biopoliméricas y exopolisacarídicas (EPS) que pueden flocular sólidos suspendidos, células y sólidos coloidales, además de ser fuentes de vitaminas y minerales (KAZAN *et al*., 2017). El conocimiento de la estructura y formación del biofloco tornase importante para la evaluación y manejo de sus efectos beneficiosos tentando optimizar su función dentro de los sistemas de cultivo, tanto en la remoción de compuestos nitrogenados como en la alimentación del animal en producción (RAY *et al*., 2010).

Los consorcios bacterianos comerciales (probióticos) en los sistemas BFT han sido utilizados con la finalidad de ayudar en la estabilización de la comunidad heterotrófica y en la competición con microorganismos autotróficos (principalmente en las fases iniciales), además de auxiliar en el reciclaje de la materia orgánica y controlar los sólidos y los niveles de nitrógeno amoniacal total (EMERENCIANO *et al*., 2017). Sin embargo, esa práctica pode funcionar o no en los cultivos de animales acuáticos, una vez que muchos de esos productos son compuestos por microorganismos alóctonos, o sea, oriundos de otros sistemas o hasta fabricados en otros países. De esta forma, la adición de cepas bacterianas autóctonas con un papel específico reconocido, pode acelerar el proceso de formación, maduración y estabilización del sistema BFT, ocasionando la proliferación de bacterias beneficiosas al ambiente y a los animales cultivados. Tomando en cuenta lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el proceso de formación de flocos a partir de la adición de un consorcio de bacterias nitrificantes autóctonas y su posterior desarrollo en un sistema de cultivo acuícola.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo fue desarrollado en dos etapas: Formación de bioflocos en el laboratorio (Laboratorio de Microbiología Ambiental y del Pescado-LAMAP), del Laboratorio de Ciencias del Mar-LABOMAR) perteneciente a la Universidad Federal

de Ceará-UFC, Brasil y formación del biofloco en una granja de cultivo en la región de Jaguaruana, Ceará.

2.1. LABORATORIO

En el laboratorio fueron evaluados dos grupos experimentales: un control (BFE), formado por un biofloco espontaneo, que consistió de agua de vivero más una relación Carbono:Nitrógeno (C:N) de (20:1); y un tratamiento (BFI), formado por un biofloco inducido, constituido por un consorcio bacteriano más agua de vivero y el ajuste de la relación C:N (20:1). (En ambos tratamientos la relación C: N fue ajustada a 20:1 con melaza líquida). En el tratamiento BFI fue adicionado un consorcio formado por cuatro estirpes bacterianas nitrificantes heterotróficas autóctonas pertenecientes a la bacterioteca del LAMAP (LABOMAR) de la Universidad Federal de Ceará-UFC (Tabla 1). Las estirpes fueron aisladas del perifiton presente en un ambiente de cultivo de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Las estirpes seleccionadas no presentaron antagonismo positivo entre sí, y fueron probadas en relación a la producción de exopolisacárido (EPS), por medio del agar rojo congo (AVC) (Freeman *et al.* 1989), agregación en microplacas de poliestireno (TMC) (Christensen *et al*. 1985) y verificada la expresión enzimática extracelular, en relación a la producción de proteasa (Prot), amilasa (Ami), celulasa (Cel), lipasa (Lip) y gelatinasa (Gel) (TEATHER; WOOD, 1982, RODRIGUES *et al*., 1993, LIU *et al*., 1996), con algunas modificaciones, además de la actividad hemolítica (Hem) (FURNISS *et al*., 1979) (Tabla 1).

Las estirpes seleccionadas fueron probadas para las siguientes características fenotípicas: antagonismo cruzado entre estirpes, producción de exopolisacárido (EPS) con la utilización del agar rojo congo (AVC) (FREEMAN *et al*., 1989), agregación en microplacas de poliestireno (TMC) (CHRISTENSEN *et al*., 1985) y verificación de la producción de las enzimas: proteasa (Prot), amilasa (Ami), celulasa (Cel), lipasa (Lip) y gelatinasa (Gel) (RODRIGUES *et al*., 1993, LIU *et al*., 1996, TEATHER;WOOD, 1982), con algunas modificaciones, además de la actividad hemolítica (Hem) (FURNISS *et al*., 1979) (Tabla 1).

Tabla 1- Caracterización de las estirpes bacterianas utilizadas en el consorcio aplicado en el BFI

Código	Morfologia	Gram	Formación de biofilm		Pruebas enzimáticas					
			ARC	TMC	Prt	Ami	Cel	Lip	Gel	Hem
1	Bastonetes	-	+	++-	+	-	-	+	-	-
2	Bastonetes	-	+	+++	+	+	-	-	-	-
3	Bastonetes	-	+	++-	+	+	-	+	-	-
4	Bastonetes	-	+	+--	+	-	-	+	+	-

ARC (Agar Rojo congo): (+) producción de exopolisacárido; TMC (Prueba de adherencia en microplacas): (+++) Adherencia fuerte: tres tubos positivos; (++-): Adherencia media, dos tubos positivos; (+- -): Adherencia débil, un tubo positivo; (---): Ausencia de adherencia; Prt: proteasa; Ami: amilasa; Cel: celulolasa; Lip: Lipasa; Gel: gelatinasa; Hem: actividad hemolítica.

Para la formación del consorcio, alícuotas de 2 mL de cada estirpe ajustada a una concentración de 1,5 x 10^8 UFC/mL utilizando la escala de McFarland 0,5 fueron adicionadas para cada 1000 mL de agua de cultivo, para la formación y agregación de los flocos bacterianos. Las fuentes de carbono (melaza de caña) y nitrógeno (comida para camarón con tenor de proteína bruta de 35 %) fueron adicionadas en una relación 20:1 (C: N), para el control de los compuestos nitrogenados. Esta relación fue calculada basándose en la cantidad necesaria para la formación inicial de los bioflocos, siguiendo la metodología sugerida por Avnimelech (1999), llevando en consideración el porciento de proteína de la comida y de las tasas de alimentación empleadas. Fue asumido que el tenor de carbono de la melaza líquida fue de 30 % (LIMA *et al.,* 2018). Posteriormente fue realizada la construcción del sistema con agua de vivero de camarón climatizado con agua dulce y aireación constante. En el acuario del tratamiento BFI fue adicionado el consorcio bacteriano.

Fue realizado el acompañamiento de los flocos por microscopia en el quinto y en el décimo octavo día para la observación de los agregados microbianos y su constitución a través del período experimental.

Al inicio y en el 18^{o} día del experimento, fueron cuantificados (en el agua inicial y en los flocos formados) los siguientes grupos microbianos: Bacterias Heterotróficas Cultivables- BHC (Agar BHI); *Pseudomonas* sp. (Agar Cetremide); Enterobateriaceae

(Agar MacConkey); Proteolíticas (Agar Leite); Amilolíticas (Agar amido) y Celulolíticas (Agar CMC).

Muestras de 1L de biofloco formado en ambos tratamientos fueron colocados en conos *Imhoff* separadamente, y después de la sedimentación de los sólidos suspendidos, fue tomada una alícuota de 1 mL y colocada en 9 mL de salina 0,85 %, formando así la primera dilución (10^{-1}), y a partir de ahí fueron realizadas diluciones seriadas hasta 10^{-6}.

Cada dilución (1 mL) fue inoculada dos veces en placas de petri por la técnica de *Pour Plate* con incubación en estufa bacteriológica por 48h a 35ºC.

Pasado ese periodo, las placas que presentaron valores de conteos entre 25 y 250 colonias fueron cuantificadas. Para el cálculo de los Conteos Padrón en Placas (CPP) fue utilizada la expresión: UFC (Unidades Formadoras de Colonias) x el inverso del factor de dilución x factor de corrección (10) (DOWNES; ITO, 2001).

Para la cuantificación de la concentración de nitrógeno amoniacal total (NAT) y nitrito fue empleado el método de indofenol y Griess-Ilosva, respectivamente, de acuerdo con Clesceri et al. (1998). La biomasa de los flocos (sólidos sedimentables) fue medida al final de los 18 días de experimentación utilizando el cono *Imhoff,* siguiendo las recomendaciones de Avnimelech (2009).

2.2. GRANJA DE CULTIVO

Los flocos microbianos formados en el laboratorio en el tratamiento BFI, fueron adicionados con un refuerzo de consorcio de las bacterias nitrificantes, antes de ser llevados a la granja. Para el refuerzo del quórum de bacterias nitrificantes fueron utilizadas alícuotas de 2 mL de cada estirpe ajustada a una concentración de 1,5 x 10^{8} UFC/mL para cada 1000 mL de floco formado.

A partir de ese biofloco pre-formado en el laboratorio, una parte de ese floco fue llevado a la granja para la producción del biofloco en una escala superior (Figura 1).

Figura 1- Fluxograma de formación de bioflocos en la granja de cultivo y los análisis realizadas.

Fonte: Os Autores

Al llegar a la granja, 5L de consorcio bacteriano producido en el laboratorio fueron adicionados en cajas de 1000 L conteniendo agua de vivero. La maduración del biofloco fue realizada en tanques circulares con capacidad de 1000 L, dotados de aireación constante. En ese sistema de maduración fueron adicionados 12 tilapias con peso medio de 61,75g (biomasa total igual a 741 g). la relación C/N fue de 20:1 para el control de los compuestos nitrogenados. Esta relación fue calculada siguiendo la metodología sugerida por Avnimelech (1999).

Fue realizado el acompañamiento diario de los sólidos sedimentables, utilizando el cono *Imhoff* (AVNIMELECH, 2009), análisis del nitrógeno amoniacal total (NAT) y nitrito, siguiendo la misma metodología empleada en el laboratorio. La alcalinidad total, dureza total, concentración de calcio y magnesio y materia orgánica en el agua fueron determinadas semanalmente (APHA, 2000). La biometría de los peces fue realizada semanalmente para el ajuste de la comida y la melaza. Las variables de desempeño zootécnico analizadas fueron: Sobrevivencia (%): [(número final de peces/número inicial de peces) x 100]; ganancia en peso diario – GPD (g): (peso final – peso inicial) días de cultivo); tasa de crecimiento específico – TCE (%):[(lnpeso final (g) – ln peso inicial (g)/período experimental) x 100] (MORO et al., 2020); Productividad (g $m^{-3}dia^{-1}$): [ganancia de biomasa (g)/volumen del tanque (m³)/período experimental]. Después de 2 horas de la adición de los flocos (pre-formados en el 232nglês232ório) fue colectada una muestra de agua del tanque de maduración para su posterior análisis en el Laboratorio de Microbiología Ambiental y del Pescado (LAMAP-UFC). Fueron realizadas diluciones seriadas de la muestra de agua de 10^{-1} a 10^{-5} y alícuotas de 1 mL de cada dilución fueron inoculadas en 232nglê de cultico Plate Count Agar, Kasvi (PCA, sigla en 232nglês) para su posterior análisis.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. LABORATORIO

Pudo ser verificado un aumento en la cuantificación de los grupos bacterianos analizados al final de los 18 días de formado el biofloco con relación al inicio (Tabla 2).

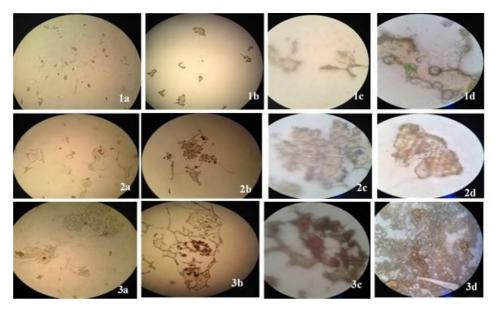
Tabla 2- Cuantificación de los grupos microbianos en el agua y en el biofloco formado en el tratamiento (BFI) y en el control (BFE) en el laboratório.

Grupos microbianos	Inicial	BFI	BFE
BHC	510	$143,0 \times 10^5$	260×10^5
Pseudomonas sp.	10 est.	$106,5 \times 10^1$	$159,5 \times 10^1$
Enterobacterias	330	$704,0 \times 10^4$	169×10^4
Proteolíticas	1300	$127,0 \times 10^3$	$191,5 \times 10^5$
Amilolíticos	850	$54,0 \times 10^4$	$44,5 \times 10^5$
Celulolíticos	1445	$198,5 \times 10^3$	$205,5 \times 10^6$

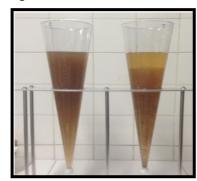
BHC: Bacterias Heterotróficas Cultivables; Est: Estimado (no fue posible contar en el intervalo de 25 a 250 Unidades Formadoras de colonias (UFC/mL).

La cuantificación de los grupos microbianos en los flocos formados en el laboratorio fue menor en el BFI comparado con los grupos en BFE, con la excepción de la cuantificación del grupo de las enterobacterias. Cambios en la composición y funcionalidad de la comunidad microbiana pueden ocurrir en ambientes acuáticos naturales o en sistemas acuícolas, pudiendo ocasionar activación o inactivación de ciertas vías metabólicas (BENTZON-TILIA, 2017). De esta forma, en el sistema BFI puede haber ocurrido una competición entre los grupos bacterianos exógenos adicionados y los autóctonos, generando una supresión en los grupos bacterianos cuantificados, indicando una posible estabilidad del ambiente.

Durante el experimento, pudo ser observado un aumento de la cantidad de agregados microbianos en los bioflocos pre-formados en ambos tratamientos (Figura 2) y en la última observación (a los 18 días después del inicio del experimento), fue observado un mayor número de agregados microbianos en el tratamiento BFI donde fue adicionado el consorcio microbiano (subitem 3d Fig. 2).

Figura 2- Monitoreo de los agregados microbianos formados en el biofloco del BFE (control) y del BFI (tratamiento), observados por microscopia electrónica, al inicio y con 18 días de experimentación

1a: floco con 5 días de experimento (BFE y BFI), con aumento de 4x; **1b**, **1c** y **1d**: aumento de 10x, 40x e 100x, respectivamente; **2a**: floco con 18 días de experimento (BFE), con aumento de 4x; **2b**, **2c** y **2d**: aumento de 10x, 40x y 100x, respectivamente; **3a**: floco con 18 días de experimento (BFI), con aumento de 4x; **3b**, **3c** y **3d**: aumento de 10x, 40x y 100x, respectivamente**.**

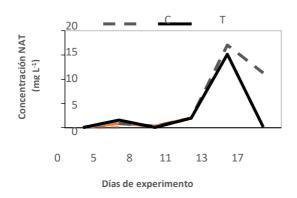
La cantidad de sólidos sedimentables con 18 días de experimentación, fue medida en el cono del tratamiento (BFI) (600 mL/L), ya los sólidos formados en el control (BFE) no sedimentaron hasta después de los 30 minutos sin agitación (Figura 3).

Figura 3- Sólidos sedimentables, control (BFE) y tratamiento (BFI)

Fonte: Os Autores

La presencia de los agregados resultó mayor y más compleja con el tiempo de cultivo, lo que podría ser explicado con el aumento de la cantidad de material particulado en el agua proveniente de la comida así como, la introducción de bacterias

con mayor capacidad de formación de agregados debido a la producción de exopolisacáridos (EPS). El EPS permite que las bacterias se agreguen posibilitando el aumento del tamaño de los flocos (LARA *et al.*, 2017), además de colonizar las superficies y ofrecer una camada protectora. Los niveles de producción de EPS dependen de las condiciones ambientales y de las bacterias presentes (TANSEL, 2018). De esta forma, se percibe la influencia que ejerce el quórum de bacterias adicionadas para iniciar los flocos sobre la estructura y mantenimiento de la red de bioflocos formados. Sousa et al. (2019) comprobaron que la estructura del floco afecta la distribución y la interacción de las bacterias nitrificantes interactuando directamente en los procesos de retirada de compuestos nitrogenados de los sistemas de cultivo.

De esta forma, cuanto más estructurado y formado esté el floco, mayor será la contribución del mismo a la mejoría de la calidad del agua además de contribuir en la nutrición de los organismos cultivados ya que la abundancia de otros grupos de microorganismos como flagelados, ciliados o micro crustáceos, tienden a aumentar porque la mayoría de ellos pastan las bacterias presentes en los flocos (BINDDANDA; POMEROY, 1988, LARA *et al.*, 2017). En el gráfico 1, puede ser observado el comportamiento de la concentración de nitrógeno amoniacal total (NAT) durante el período de formación del biofloco espontâneo (BFE-control) e inducido (BFI-tratamiento).

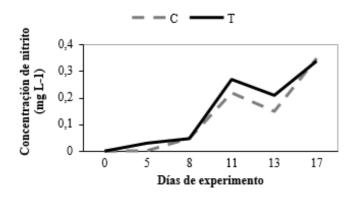
Gráfico 1- Concentración de nitrógeno amoniacal total en el agua del control y del tratamiento durante el período de experimentación

La concentración de NAT osciló durante los días del experimento presentando valores más elevados en el décimo tercer día, con valores de 17,05 y 15,15 mg/L, para el control (BFE) y el tratamiento (BFI) respectivamente. En el agua del tratamiento, en

el décimo séptimo día pudo ser observado una disminución acentuada de la concentración de NAT (0,11 mg/L), diferente del que ocurrió en el control BFE (12 mg/L).

Las concentraciones de los compuestos nitrogenados del agua en ambos tratamientos solo fueron analizadas hasta el 17º día en el laboratorio. Mediante el análisis de estos datos en el laboratorio se puede inferir que se hace necesario mayor tiempo de maduración para que el sistema BFT, el biofloco total (BFT) sea capaz de retirar los compuestos nitrogenados del agua. Por otra parte, es importante destacar que la capacidad de soporte del sistema montado en el laboratorio fue pequeña lo que probablemente no dejó visualizar la remoción eficiente de los compuestos nitrogenados.

A pesar del corto periodo de experimento *in vitro*, fue posible visualizar que el tratamiento (BFI) en el que fue utilizado el consorcio de bacterias nitrificantes como formadoras del floco presentó los niveles de amonio con disminuciones acentuadas, llegando a presentar valor cero en el último dato analizado (Grafico 1).

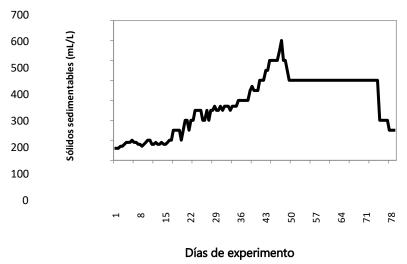
Con relación a la concentración de nitrito fue observada una disminución después del período del experimento, llegando a alcanzar un valor de 0,34 mg/L en el agua al décimo séptimo día en el BFI (Gráfico 2).

Gráfico 2- Concentración de nitrito en el agua (control y tratamiento) durante el período del experimento.

El paso de amonio para nitrito fue rápido evidenciado por las elevadas concentraciones de nitrito en el tratamiento (Grafico 2), además puede ser observado que el valor de nitrito fue ligeramente inferior y en declive en comparación con el control (BFE). Otro punto a destacar fue la rápida y eficiente formación de los flocos observados bajo microscopia y a través del volumen de sólidos sedimentables en el cono *Imhoff*.

3.2. GRANJA DE CULTIVO

Los flocos adicionados al sistema de maduración presentaron una cuantificación de bacterias heterotróficas cultivables (BHC, sigla en inglés) igual a 163 x 10^5 UFC/mL, después de 2 horas de inoculación de las bacterias en el sistema. Estudios previos informan que la producción de bioflocos ocurre cuando la concentración microbiana alcanza valores de 10^7 UFC/mL (BURFORD *et al*., 2003, DANIEL; NAGESWARI, 2017). El uso de inóculo de bioflocos de cultivos anteriores posibilitaron mayores retiradas de compuestos nitrogenados en el sistema de producción de camarón *Litopenaeus vannamei*, según Santos et al. (2019). Los autores atribuyeron ese resultado con la presencia de bacterias nitrificantes y heterotróficas que se establecieron y permanecieron activas en el nuevo sistema en que fue realizada la adición del inóculo del biofloco. De esta forma, la adición de bioflocos pre- formados auxilia en el mantenimiento de niveles aceptables de los compuestos nitrogenados tóxicos. En el presente trabajo, los bioflocos fueron pre-formados en el laboratorio con la adición del consorcio de bacterias nitrificantes lo que posibilitó un rápido crecimiento y el establecimiento de una comunidad microbiana estable, teniendo en cuenta la elevada cuantificación de bacterias heterotróficas en el sistema después de la adición del consorcio y la rápida formación de los sólidos sedimentables.

El comportamiento (semanal) de los sólidos sedimentables a lo largo del experimento queda expresado en el gráfico 3.

Gráfico 3- Comportamiento semanal de los sólidos sedimentables en el tanque de maduración del biofloco en la granja

Después de una semana de inicio de la maduración del biofloco, 60 mL de floco fue verificado en el cono *Imhoff* , alcanzó 600 mL/L con 85 días y posteriormente presentó un declive y estabilizó entorno a los 400 mL/L. Con 133 días de cultivo, los sólidos declinaron y quedaron entorno a los 150 mL/L hasta el período final del cultivo. Este resultado demuestra la eficiente formación de los flocos en el sistema de cultivo cuando fue adicionado el consorcio de bacterias nitrificantes probadas en el laboratorio.

Fue observado un aumento gradual de las concentraciones de los sólidos totales re suspendidos en el sistema de cultivo después de la adición del biofloco pre formado. Concentraciones totales de sólidos suspendidos de 100-300 mg/L (equivalente aproximadamente a 15 mL/L de sólidos sedimentables) durante la formación de bioflocos son importantes para mantener la calidad del agua, especialmente cuando el proceso de nitrificación no está bien establecido, según lo sugerido por Gaona et al. (2018) para cultivos de camarones. Al final del experimento fue realizada una nueva clarificación, y los sólidos sedimentables quedaron con volúmenes de 150 mL/L, valor ese considerado mayor que el ideal para el cultivo de camarones, según Avnimelech (2009) los valores deben encontrarse entre 2 y 40 mL L^{-1}.

Después de 90 días de maduración del floco en los sistemas de cultivo, fue realizada la clarificación del agua por el método propuesto por Gaona et al. (2018), a fin de disminuir la concentración de los sólidos sedimentables que estaban en torno a

600 mL/L. Después del proceso de retirada, el volumen de los sólidos quedó entorno a 400 mL/L.

Las concentraciones de nitrógeno amoniacal total (NAT) durante el periodo experimental son representadas en el gráfico 4. Los mayores valores de NAT fueron observados en el vigésimo quinto día de maduración, alcanzando 5,5 mg/L. Después de ese valor pico fue posible detectar la disminución de la concentración de ese compuesto en el agua, con una tendencia a la estabilización quedando entorno a 1,0 mg/L y reduciendo a valores cercanos a cero en los últimos días del experimento.

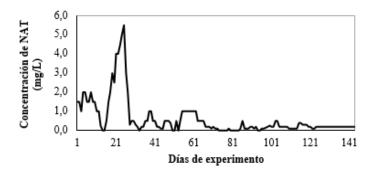
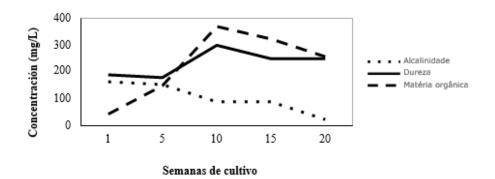
Gráfico 4- Concentración de nitrógeno amoniacal total (NAT) durante el periodo de maduración del biofloco.

En el gráfico 5 pueden ser observadas las concentraciones de nitrito durante el periodo de maduración del biofloco. El primer valor pico de nitrito ocurrió en el día 21, con valor aproximado de 8,0 mg/L, valor alcanzado en el mismo periodo en que ocurrió el máximo valor de NAT, de esta forma indicando la acción de las bacterias nitrificantes, grupo de las oxidadoras de amonio, convirtiendo amonio en nitrito. Posteriormente, fueron registrados declives y elevaciones de las concentraciones de nitrito, las cuales permanecieron con valores por encima de 5,5 mg/L por un largo periodo de tiempo. En el día 116, fue posible detectar valores cero o próximos a cero indicando la total maduración del sistema.

Gráfico 5- Concentración de nitrito en el tanque de maduración del biofloco en la granja de cultivo.

La alcalinidad total analizada semanalmente presentó un declive con el pasar de los días de maduración del biofloco, como puede ser observado en el gráfico 6. Inicialmente presentó valor de 170 mg de CaCO3/L y con el pasar de las semanas del experimento, las reservas alcalinas disminuyen, alcanzando valores de 20 a 25 mg de CaCO3/ L.

Gráfico 6- Concentración de la alcalinidad total, dureza total y materia orgánica en el tanque de formación del biofloco en la granja de cultivo.

Durante los días de cultivo fue observada una reducción de la alcalinidad lo que probablemente pueda ser explicada debido a un aumento de la materia orgánica, como puede ser observado en el gráfico 6, la que al ser descompuesta libera entre otros compuestos, gas carbónico para el agua que en conjunto con la respiración de los microorganismos hacen con que haya una reducción en las reservas alcalinas del sistema (GAONA et al., 2017). Son recomendados valores de alcalinidad mayores de 30 mg de CaCO3/ L para el cultivo de animales acuáticos. En sistemas BFT lo ideal es mantener valores por encima de 100 mg/L, una vez que valores más elevados de alcalinidad ayudan en la asimilación del nitrógeno por bacterias heterotróficas y la nitrificación por las bacterias quimio autotróficas (EMERENCIANO *et al*., 2017).

En el gráfico 7 se presentan las concentraciones de calcio y magnesio durante el periodo de maduración de los flocos.

Gráfico 7- Concentración de calcio y magnesio en el tanque de formación de los bioflocos.

Los minerales calcio y magnesio son esenciales para el perfecto desarrollo de los animales cultivados. Hubo oscilaciones de esos iones en el agua de cultivo, sin embargo, no perjudicó el desarrollo de los peces, una vez que los valores permanecieron dentro de la faja recomendada para el agua de cultivo en ambientes de baja salinidad que es de 5-100 mg/L (SÁ, 2012).

Las tilapias tuvieron un aumento de peso durante el período del experimento, iniciando con 61,75 g y llegando a 230 g, durante 92 días (gráfico 8).

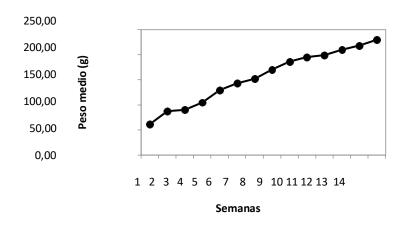
Gráfico 8- Peso medio de las tilapias durante los 92 días de cultivo con adición del consorcio microbiano.

En la tabla 3 se expresan los valores del desempeño zootécnico de las tilapias durante el periodo de 92 días que pasaron en el sistema de cultivo con bioflocos domesticados.

Tabla 3- Desempeño del crecimiento de las tilapias en el sistema de maduración de los bioflocos domesticados durante 92 días de experimento.

VARIABLES	BFT TILAPIA
Sobrevivencia (%)	91.7
Peso medio inicial (g)	61.75
Peso medio final (g)	230.0
GPD (g/día^{-1})	1.83
Biomasa final (g)	2.530,0
Ganancia en Biomasa (g)	1.789,0
TCE (% dia^{-1})	1.43
Productividad (g m^{-3}dia^{-1})	27.5

GPD: Ganancia en peso medio diario (g/día); TCE: Tasa de crecimiento específico (% día^{-1}).

El aumento en peso de las tilapias concuerda con los valores reportados por Silva et al. (2017) los que constataron un aumento de peso en tilapias cultivadas en sistemas BFT con el empleo de dos relaciones C: N (10:1 y 20:1) y tres fuentes de carbono (melaza de caña, azúcar y salvado de arroz). La sobrevivencia fue mayor de 90%, tasa semejante a la encontrada en otros trabajos con aplicación del sistema BFT en cultivos de tilapia (LIMA *et al.*, 2018).

La ganancia en peso medio diario de las tilapias fue de 1,83 g, resultado del consumo de comida ofertada asociada a la ingestión de los flocos microbianos formados en el sistema. Lima *et al*. (2018) al realizar el cultivo de tilapia del Nilo (72,6 g) por 145 días en el sistema BFT manteniendo una relación C:N de 6:1 con adición de melaza líquida obtuvieron resultados de crecimiento semejantes a los encontrado en nuestro trabajo (1,84 ± 0,12 g). Por otra parte, Pérez-Fuentes et al. (2016), obtuvieron el valor de 0,95g, valor ese 2,63 veces menor que el obtenido por nosotros mediante la aplicación de los bioflocos domesticados, de esta forma, validando el procedimiento

desarrollado por medio del uso de bacterias iniciadoras de los flocos en el laboratorio en comparación con los bioflocos espontáneos aplicados por los otros autores.

4. CONCLUSIONES

Fue verificada la eficiencia del proceso de formación de bioflocos inducidos con la utilización de un consorcio de bacterias nitrificantes autóctonas en el laboratorio y su aplicación en el cultivo de Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*).

AGRADECIMIENTOS

Agradacemos a la Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico-FUNCAP por el apoyo financiero em el otorgamiento de bolsas de Innovación Tecnológicas para el desarrollo de este trabajo y en especial al Prof. Dr. Raúl Cruz Izquierdo, Cientista Chefe do Programa de Políticas Públicas em Pesca e Aquicultura- FUNCAP.

Al Laboratorio de Microbiología Ambiental y del Pescado (LAMAP) de la Universidade Federal do Ceará (UFC).

REFERENCIAS

AVNIMELECH, Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. Aquaculture, v. 264, p. 140–147, 2007.

AVNIMELECH, Y.; MOKADY, S.; SCHROEDER, G.L. Circulated ponds as efficient bioreactors for single-cell protein production. Israeli Journal Aquaculture Bamidgeh, v. 41, n. 2, p. 58–66, 1989.

AVNIMELECH, Y. Biofloc Technology: A Practical Guide Book. 2nd: 50-67., World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, 2009.

AHMAD, I.; RANI, A. M.B.; VERMA, A. K.; MAQSOOD**, M.** Biofloc technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition. Aquaculture International, v. 25, p. 1215–1226, 2017.

APHA. American Public Health Association. 2000. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water. 19th ed. Washington, DC. American Public Health Association, 1-10 p.

BENTZON-TILIA, M.; SONNENSCHEIN, E. C.; GRAM, L. Monitoring and managing microbes in aquaculture – Towards a sustainable industry. Biotechnology, v. 9, p. 576–584, 2016.

BURFORD, M. A.; THOMPSON, P. J.; MCINTOSH, R. P.; BAUMAN, R. H.; PEARSO, D. C. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. Aquaculture, v.219, n. 1, p. 393-411, 2003.

BIDDANDA, B.A.; POMEROY, L.R. Microbial aggregation and degradation of phytoplankton-derived detritus in seawater. I. Microbial succession. Marine Ecology – Progress Series, v. 42, p. 79-88, 1988.

CRAB, R.; AVNIMELECH, Y.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Nitrogen removal in aquaculture for a sustainable production. Aquaculture, v. 270. n. 1–4, p. 1-14, 2007.

CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. Aquaculture, 356-357: 351-356, 2012.

CHRISTENSEN, G. D.; SIMPSON, W. A.; YOUNGER, J. J.; BADDOUR, L. M.; BARRETT, F.F.; MELTON, D. M. Adherence of coagulase- negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. Journal of Clinical Microbiology, v. 22, p. 996-1006, 1985.

CLESCERI, L. S.; GREENBERG, A. E.; EATON, A. D. Standard methods for the examination of water and wastewater (20thed.). Washington, DC: American Public Health Association, 1998.

CORREIA, E. S.; WILKENFELD, J. S.; MORRIS, T. C.; PRANGNELL, E. L.; & D.I. SAMOCHA, T.M. Intensive nursery production of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* using two commercial feeds with high and low protein content in a biofloc-dominated system. Aquacultural Engineering, v. 59, p. 48-54, 2014.

DANIEL, N.; NAGESWARI, P. Exogenous Probiotics on Biofloc Based Aquaculture: A Review. Current Agriculture Research Journal, v. 5, n. 1, p. 88-107, 2017.

DOWNES, M. P.; ITO, K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. APHA. 4th ed.Washington, DC, 2001.

EMERENCIANO, M.; GAXIOLA, G.; CUZON, G. Biofloc Technology (BFT): A Review for Aquaculture Application and Animal Food Industry. In: Biomass Now: Cultivation and Utilization, Matovic, M.D. (Ed.). Chapter 12, InTech, Rijeka, Croatia, pp: 302-328, 2013.

EMERENCIANO, M. G. C.; MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. R.; MARTÍNEZ-PORCHAS, M.; MIRANDA-BAEZA, A. Biofloc Technology (BFT): A Tool for Water Quality Management in Aquaculture. In: H. Tutu (Ed.). Water Quality. InTech, doi: 10.5772/66416, 2017.

FREEMAN, D. J.; FALKINER, F. R.; KEANE, C. T. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. Journal of Clinical Pathology, v. 42, p. 872-874, 1989.

FURNISS, A. L.; LEE, J. V.; DONOVAN, T. J. The *Vibrio*. Monograph Series, London: Public Health Laboratory Service, p. 58, 1979.

GAONA, C. A. P.; POERSCH, L. H.; KRUMMENAUER, D.; FOES, G. K.; WASIELESKY JUNIOR, W. 2011. The effect of solids removal on water quality, growth and survival of litopenaeus vannamei in a biofloc technology culture system. International Journal of Recirculating Aquaculture, 12:54-73.

GAONA, C. A. P.; ALMEIDA, M. S.; VIAU, V.; POERSCH, L. H.; WASIELESKY JUNIOR, W**.** Effect of different total suspended solids levels on a *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) BFT culture system during biofloc formation. Aquaculture Research, v. 48, p. 1070–1079, 2017.

KASAN, N.A.; GHAZALI, N. A.; IKHWANUDDIN, M. H. D.; IBRAHIM, Z. Isolation of Potential Bacteria as Inoculum for Biofloc Formation in Pacific Whiteleg Shrimp, *Litopenaeus vannamei* Culture Ponds. Pakistan Journal of Biological Sciences, v. 20, n. 6, p. 306-313, 2017.

LARA, G.; KRUMMENAUER, D.; ABREU, P. C.; POERSCH, L. H.; WASIELESKY JR, W. The use of different aerators on *Litopenaeus vannamei* biofloc culture system: effects on water quality, shrimp growth and biofloc composition. Aquaculture International, v. 25, p. 147–162, 2017.

LIMA, E. C.R.; SOUZA, R. L.; GIRAO, P. J. M.; BRAGA, I. F. M.; CORREIA, E. S. Culture of Nile tilapia in a biofloc system with different sources of Carbono. Revista Ciência Agronômica, v. 4, n. 3, p. 458-466, 2018.

LIU, P. C.; LEE, K. K.; CHEN, S. N. Pathogenicity of different isolates of *Vibrio harveyi* in tiger prawn, *Penaeus monodon*. Letter in Applied Microbiology, v. 22, p. 413-416, 1996.

MARTÍNEZ-PORCHAS, M.; EZQUERRA-BRAUER, M.; MENDOZA-CANO, F.; CHAN-HIGUERA, J. E.; VARGAS-ALBORES, F.; MARTÍNEZ-CORDOVA, L. R. Effect of supplementing heterotrophic and photoautotrophic biofloc, on the production response, physiological condition and post-harvest quality of the whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei. Aquaculture Reports, v. 16, 2020.*

MARTINEZ-CORDOVA, L. R.; MARTINEZ-PORCHAS, M.; EMERENCIANO, M.; MIRANDA-BAEZA, A.; GOLLAS, T. From microbes to fish the next revolution in food production. Critical Reviews in Biotechnology, v. 37, p. 287-295, 2016.

MORO, E. B.; PESSINI, J. E.; YAMASHIRO, D.; NEU, D. H.; BITTENCOURT, F.; BOSCOLO, W. R.; SIGNOR, A. Fenilalanina em dietas para juvenis de tilápia do Nilo. Brazilian Journal of Development, v. 6, n.5, p. 29340-29353, 2020.

PÉREZ-FUENTES, J. A.; HERNÁNDEZ-VERGARA, M. P.; PÉREZ-ROSTRO, C. I.; FOGEL. I. C: N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised in a biofloc system under high density cultivation. Aquaculture, v. 425, p. 247–251, 2016.

RAY A. J.; LEWIS, B. L.; BROWDY, C. L.; LEFFLER, J. W. Suspended solids removal to improve shrimp *(Litopenaeus vannamei)* production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. Aquaculture, v. 299, p. 89-98, 2010.

RODRIGUES D. P.; RIBEIRO, R. V.; ALVES, R. M.; HOFER, E**.** Evaluation of virulence factors in environmental isolates of *Vibrio* species. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 88, n. 4, p. 589-592, 1993.

SÁ, M. V. C. 2012. Limnocultura: Limnologia para aquicultura. Fortaleza: Edições UFC. 218 pp.

SANTOS, N. B. V.; FURTADO, P. S.; CÉSAR, D. E.; WASIELESKY JÚNIOR, W. Assessment of the nitrification process in a culture of pacific White shrimp, using artifical substrate and bacterial inoculum in a biofloc technology system (BFT). Ciência Rural, v. 49, n. 6, p.1-10, 2019.

SILVA, L.; ESCALANTE, E.; VALDÉS-LOZANO, D.; HERNÁNDEZ, M.; GASCA-LEYVA, E. Evaluation of a Semi-Intensive Aquaponics System, with and without Bacterial Biofilter in a Tropical Location. Sustainability, v. 9, p. 592-604, 2017.

SILVA, L.; FALCON, D.R. PESSÔA, M.N.C.; CORREIA, E.S. Carbon sources and C:N ratios on water quality for Nile tilápia farming in biofloc system. Revista Caatinga, Mossoró, v. 30, n. 4, p. 1017-1027, 2017.

SOUZA, J.; ALESSANDRO, C.; WASIELESKY JR , W.; PAULO, A. C. Does the biofloc size matter to the nitrification process in Biofloc Technology (BFT) systems? Aquaculture, v. 500, p. 443–450, 2019.

TANSEL, B. Morphology, composition and aggregation mechanisms of soft bioflocs in marine snow and activated sludge: A comparative review. Journal of Environmental Management, v. 205, p. 231-243, 2018.

TEATHER, R. M.; WOOD, P. J. Use of Congo Red-Polysaccharide Interactions in Enumeration and Characterization of Cellulolytic Bacteria from the Bovine Rument. Applied and Environmental Microbiology, v. 43, n. 40, p.777-780, 1982.

CAPÍTULO 16

CONTROLE DO CARRAPATO R. MICROPLUS EM PROPRIEDADES LEITEIRAS NO PLANALTO CATARINENSE, SUL DO BRASIL.

Andressa Kemer
Engenheira Agrônoma/Mestre em Ciências Universidade Federal de Santa Catarina/Campos Curitibanos
Endereço: Rodovia Ulysses Gaboardi, km 3, CEP 89520-000, Curitibanos/SC
E-mail: andressa.kemer@gmail.com

Bruna Juliana Américo Machado
Aluna de Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Catarina/Campos Curitibanos Endereço: Rodovia Ulysses Gaboardi, km 3, CEP 89520-000, Curitibanos/SC
E-mail: bruna_juliana99@hotmail.com

Daniel Comelli
Aluno de Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Catarina/Campos Curitibanos Endereço: Rodovia Ulysses Gaboardi, km 3, CEP 89520-000, Curitibanos/SC
E-mail: danocomel@gmail.com

Carine Lisete Glienke
Doutora em Zootecnia pela Universidade Federal de Santa Maria/Professor Adjunto C Universidade Federal de Santa Catarina/Campos Curitibanos
Endereço: Rodovia Ulysses Gaboardi, km 3, CEP 89520-000, Curitibanos/SC
E-mail: carineglienke@gmail.com

Alexandre de Oliveira Tavela
Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa/Professor Adjunto C Universidade Federal de Santa Catarina/Campos Curitibanos
Endereço: Rodovia Ulysses Gaboardi, km 3, CEP 89520-000, Curitibanos/SC
E-mail: alexandre.tavela@ufsc.br

RESUMO: O manejo sanitário empregado em rebanhos leiteiros reflete diretamente na produção final, sendo este um aspecto importante e que merece atenção dentro do sistema produtivo adotado. O objetivo do trabalho foi identificar as práticas de prevenção e controle do carrapato utilizadas em propriedades leiteiras e analisar a correlação com a ocorrência desse parasito em rebanhos do Planalto Serrano Catarinense. Entre novembro de 2018 e maio de 2019 selecionou-se 18 propriedades leiteiras, onde coletou-se dados com emprego de um questionário semiestruturado sobre a idade e raça dos animais, área total destinada a pastagem, característica da pastagem, uso ou não de quimioterápicos convencionais, princípios ativos utilizados, assistência técnica, fonte da indicação dos produtos, trocas de princípios ativos, emprego de métodos alternativos de controle dos carrapatos, ocorrência de altas infestações por carrapatos (acima de 100 teleóginas). Realizou- se análise descritiva, estabelecendo a frequência de respostas para cada variável estudada, bem como análise de correlação de Pearson entre elas. Em 61% das propriedades estudadas,

produtos químicos sintéticos são usados para controlar carrapatos. Dessas propriedades, 67 % apresentaram alta infestação de carrapatos durante o período do estudo, enquanto nas propriedades caracterizadas por usarem apenas métodos alternativos de controle (homeopatia e rotação de pastagem) (17 %), não houveram relatos de infestações por parasitos. Apenas 26 % dos produtores relataram contar com assistência técnica. A maioria dos produtores de leite (66 %) afirmou realizar a troca de princípios ativos, mas sem regularidade ou orientação técnica. Identificou-se correlação positiva moderada entre infestação e idade (0,49), uso de quimioterápico como controle (0,35), indicação do produto (0,24) e correlação moderada negativa entre a infestação e a troca do princípio ativo (0,45) e entre o uso de quimioterápico e método alternativo de controle (0,44). Observou-se que o conhecimento dos produtores sobre as formulações disponíveis é escasso ou incorreto. Em geral, o controle de carrapatos no município de Curitibanos é realizado de maneira empírica, com o uso de carrapaticidas químicos.

PALAVRAS-CHAVE: Assistência técnica, bovinos de leite, controle alternativo, ectoparasiticidas, práticas de manejo, quimioterápicos convencionais

ABSTRACT: The health management used in dairy herds directly reflects on the final production, which is an 248ontrolo f aspect and 248ontrolo attention within the adopted production system. The objective of the work was identify the prevention and control practices used in dairy farms and to analyze the correlation with the occurrence of this parasite in herds on the Planalto Serrano Catarinense. Between November 2018 to may 2019, 18 dairy farms were selected, where data were collected using a semi-structured questionnaire on the age and breed of the animals, total 248ont for grazing, characteristic of pasture, use or 248ontro conventional chemotherapy, active 248ontrolo f248248 used, technical assistance, source of indication of products, exchanges of active 248ontrolo f248248, use of alternative methods of tick control, occurrence of high tick infestations (over 100 teleologens). Descriptive analysis was performed, establishing the frequency of responses for each variable studied, as well as analysis of correlation between them. In 61 % of the properties studied, synthetic chemicals are used to control ticks. Of these properties, 67 % showed high tick infestation during the study period, while in the properties characterized by using only alternative control methods (homeopathy and pasture rotation) (17 %), there were no reports of parasite infestations. Only 26 % of producers reported having technical assistance. The majority of milk producers (66 %) stated that they 248ontrolo active 248ontrolo f248248, but without regularity or technical guidance. A moderate positive correlation was identified between infestation and age (0.49), use of chemotherapy as a control (0.35), indication of the product (0.24) and a moderate negative correlation between infestation and the 248ontrolo of the active 248ontrolo f248 (0 ,45) and between the use of chemotherapy 248ontro alternative method of control (0.44). It was observed that the producers’ knowledge about the available formulations is scarce or incorrect. In general, the 248ontrolo f ticks in the municipality of Curitibanosis carried out empirically, using chemical ticks.

KEYWORDS: Alternative control, conventional chemotherapy, dairy cattle, ectoparasiticides, management practices, technical assistance.

1. INTRODUÇÃO

Localizado na região Sul do Brasil, o estado de Santa Catarina ocupa o quinto lugar no *ranking* nacional de produção de leite, com uma quantidade superior a 2,9 bilhões de litros produzidos em 2018 (IBGE, 2018; EPAGRI, 2018). O município de Curitibanos está inserido na mesorregião Serrana do estado, a qual possui forte ligação com a produção pecuária. No entanto a região demonstra carência no que diz respeito a assistência técnica aos produtores, o que gera influência negativa no desempenho produtivo do setor.

Sendo assim, a atividade leiteira se relaciona intimamente com o manejo adotado na propriedade, e, nesse contexto, são englobadas todas práticas realizadas diretamente com os animais afim de favorecer seu desenvolvimento e produção. Tais práticas são, na maioria das vezes, realizadas de maneira empírica, ou seja, sem qualquer respaldo técnico.

Para que haja elevada eficiência produtiva e viabilidade do negócio, é essencial que os pecuaristas façam uso de boas práticas sanitárias, independentemente do tamanho do rebanho, visto que o aparecimento de doenças e parasitos pode levar à redução da produtividade. Sendo assim, ocorrência descontrolada de agentes patogênicos na propriedade reflete em prejuízos na produção e qualidade de leite, carne e couro, tornando difícil a comercialização dos produtos e refletindo diretamente no rendimento final da propriedade (ANDREOTTI *et al*., 2016).

Neste contexto, destaca-se o carrapato – *Rhipicephalus microplus* - um dos parasitos mais comuns e responsável por grandes prejuízos na pecuária Catarinense e do país como um todo (PASCOETI *et al*., 2016). Este parasito ocorre basicamente em todo o território nacional, tendo seu nível de parasitismo variando em função das condições climáticas, do manejo das pastagens e dos rebanhos bem como das raças exploradas (SOUZA, 2013). Assim, o objetivo do presente estudo, foi caracterizar as práticas de manejo sanitário para o controle de carrapato adotado pelos produtores em propriedades leiteiras, e correlacionar com a ocorrência de infestações por carrapatos em rebanhos leiteiros de Curitibanos, Planalto Catarinense.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em 18 propriedades rurais com produção de leite do município de Curitibanos no Planalto Catarinense, no período de novembro de 2018 a maio de 2019. As propriedades utilizadas no estudo, possuíam em média 9 hectares

de área destinada à pastagem para os animais, sendo estas cultivadas ou naturalizadas. O número médio de animais em lactação dessas propriedades era de 13 animais (amplitude de 5 a 28 animais).

A região do município de Curitibanos está inserida em local de clima Cfb (subtropical úmido com verões amenos), conta com precipitação média anual de 1.480 m, temperatura máxima média de 22,0 °C e mínima média de 12,4 °C (EMBRAPA, 2011).

Após agendamento prévio, realizou-se uma visita nas propriedades, nesta ocasião, informações foram coletadas com uso de formulário semiestruturado (Apêndice A). As variáveis do estudo foram idade e raça dos animais, área total destinada a pastagem, característica da pastagem, uso ou não de quimioterápicos convencionais, princípios ativos utilizados, assistência técnica, fonte da indicação dos produtos, trocas de princípios ativos, emprego de métodos alternativos de controle dos carrapatos, ocorrência de altas infestações por carrapatos (acima de 100 teleóginas no rebanho em lactação).

Todas as informações acerca das variáveis coletadas foram fornecidas pelos produtores, sendo a veracidade das mesmas de inteira responsabilidade dos mesmos. Durante o período de estudo a equipe de pesquisa entrou em contato com os produtores, afim de questioná-los sobre a infestação de carrapatos (acima de 100 teleóginas), onde os mesmos informaram sobre a ocorrência ou não de teleóginas no rebanho em lactação, esse dado fora adicionado na ficha da respectiva propriedade.

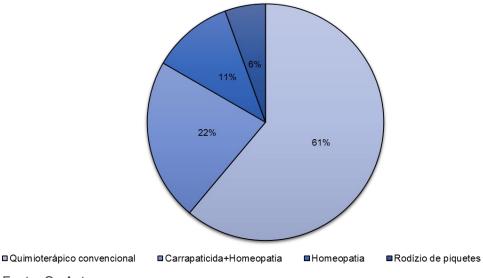
O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (CAAE n° 89153118.0.0000.0121).

As respostas foram tabuladas em planilhas *Excel*, e foi realizada análise descritiva dos dados, estabelecendo-se a frequência das respostas obtidas para cada variável abordada nas entrevistas com os produtores. Realizou-se ainda a comparação das médias entre as amostras, por meio de testes de hipótese estatística não paramétrica, uma vez que a distribuição dos dados não foi normal.

Utilizou-se o teste de *Kruskal-Wallis* para identificar diferença significativa cruzando as variáveis independentes (respostas obtidas nos questionários) com a variável dependente (sim ou não para a infestação com mais de 100 teleóginas). Empregou-se também uma análise de correlação entre as variáveis, o método utilizado foi Pearson. Todas as análises foram realizadas no programa estatístico *RStudio,* com intervalo de confiança de 95 %.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

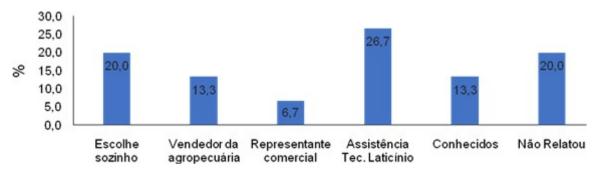
Observou-se que 61 % dos produtores fazem uso exclusivo de quimioterápicos convencionais. Além disso, 22 % dos entrevistados relataram o uso de associação entre esses fármacos e homeopatia enquanto os demais dispensam o uso de quimioterápicos, declarando o emprego exclusivo de técnicas alternativas de controle (homeopatia 11 %; manejo de piquetes 6 %) (figura 1).

Figura 1. Métodos no controle dos Carrapatos *R. microplus* utilizados pelos produtores em rebanhos leiteiros de 18 propriedades de Curitibanos, Planalto Catarinense. Valores expressos em percentagens.

Fonte: Os Autores

Por serem considerados práticos, eficazes e econômicos, os acaricidas químicos têm sido há anos o método mais utilizado no controle dos carrapatos (FERRETTO, 2013). No entanto, na maioria das vezes, o emprego desses produtos é realizado com pouca ou nenhuma orientação técnica, conforme observou-se nesse estudo, onde 38 % dos entrevistados afirmam não contar com assistência técnica efetiva. Essa situação ocasiona o risco de contaminação da carne e leite com resíduos químicos, bem como do próprio ambiente. Além disso, outra grave consequência é o aumento da pressão de seleção e, consequentemente, aceleração no aparecimento de populações de carrapatos resistentes (ANDREOTTI *et al.,* 2016).

Com relação à fonte da indicação do produto carrapaticida a ser utilizado na propriedade, apenas 26,7 % dos produtores afirmaram receber orientação de um profissional habilitado, sendo este, o médico veterinário da empresa para a qual

comercializam o leite. Dessa forma, os produtores tendem a escolher os quimioterápicos de maneira empírica. Em 20 % das propriedades visitadas, a escolha é feita pelo produtor sem qualquer assistência técnica; em 13,3 % delas é seguida a indicação do balconista da agropecuária onde o produtor costuma comprar os medicamentos; em 13,3 % das propriedades é utilizado o produto indicado pelos vizinhos; em 6,7 % se faz uso do produto recomendado por um representante comercial, e em outros 20 % das propriedades o produtor não soube ou não declarou como toma essa decisão (figura 2).

Figura 2. Fonte de indicação dos produtos para o controle dos Carrapatos R. *microplus* - aos produtores de leite em Curitibanos, Planalto Catarinense. Valores expressos em percentagens. (Elaborado pelo autor).

Fonte: Os Autores

A identificação da baixa eficácia do acaricida leva o produtor a realizar trocas constantes de princípio ativos e, ainda, realizar um elevado número de aplicações durante o ano. Essa pressão de seleção potencializa ainda mais o surgimento de populações resistentes a basicamente todas as formulações comerciais para o controle (FERRETTO, 2013). Nesse contexto, 66 % dos produtores relataram que realizam a troca de princípio ativo, no entanto, a frequência e os critérios dessa substituição são empíricos. Respaldo disso, é o dado de que 40 % dos produtores afirmaram que a troca do fármaco ocorre quando “não percebem mais seu efeito”. Em contrapartida, nenhum produtor declarou ter realizado qualquer teste para detecção de resistência nas populações de carrapatos em sua propriedade.

Percebeu-se que os produtores estão familiarizados com produtos comerciais e não com os princípios ativos, o que frequentemente gera a troca de uma base por outra da mesma família e com o mesmo mecanismo de ação. As bases medicamentosas mais usadas foram associação de piretróides + organofosforados + monoterpenoides (15,2 %), apenas piretróides (12,1 %) e associação de piretróides +

organofosforados + potencializador de piretróide, organofosforados + piretróides e lactonasmacrocíclicas (ambos 9,1 %).

Essas bases são usadas há décadas no controle dos carrapatos dos bovinos e são escolhidas principalmente por não terem carência e, portanto, não implicarem em descarte do leite. No entanto, esses princípios ativos, usados isoladamente ou de forma combinada já têm se apresentado com ineficácia comprovada em diversas regiões do Brasil (FERRETTO, 2013) e seu uso empírico/indiscriminado podem contribuir para o aparecimento de populações de carrapatos resistentes na região de estudo.

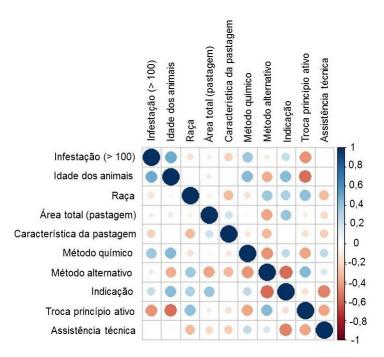
Com relação a ocorrência de carrapatos nas propriedades visitadas no estudo, observou-se que cenários de infestações (mais de 100 teleóginas no rebanho em lactação) no período de janeiro a maio de 2019 aconteceram em 50 % das propriedades estudadas (figura 3).

Figura 3. Localização das propriedades leiteiras nas quais foram identificadas ocorrência de infestação de carrapatos (> 100 teleóginas) no período de janeiro a maio de 2019 (pinos vermelhos). (Imagem gerada pelo autor com *Google Earth Pro*).

Fonte: Os Autores.

Em virtude da localização climática da região do município de Curitibanos (Cfb - subtropical úmido com verões amenos), atribui-se o fato de que, no período do verão é esperada alta infestação desse parasito, diminuindo com a chegada das estações mais frias, uma vez que este adapta-se perfeitamente em áreas tropicais, com temperatura e umidade elevada, sendo estas condições favoráveis a sobrevivência e manutenção desses indivíduos (FERRETTO, 2013).

As análises estatísticas empregadas nos dados do presente estudo não evidenciaram diferenças significativas entre as médias das variáveis estudadas e a infestação de carrapatos ($p > 0,05$ em todas as comparações). No entanto, na análise de correlação de Pearson, foi possível observar associações entre algumas variáveis (figura 4).

Figura 4. Correlação de Pearson entre fatores epidemiológicos (variáveis independentes) e a ocorrência de infestação de carrapatos R. *microplus* (> 100 teleóginas) nos rebanhos leiteiros de Curitibanos, SC no período de 2018/2019. Elaborado pelo autor.

Fonte: Os Autores.

Considerou-se correlação positiva moderada (IC 95 %) entre infestação e idade (0,49), infestação e uso de quimioterápico como controle (0,35), infestação e a indicação do produto (0,24) e correlação moderada negativa entre a infestação e a troca do princípio ativo (0,45) e entre o uso de quimioterápico e método alternativo de controle (0,44).

Os animais utilizados na análise apresentavam uma amplitude de idade entre 30 e 96 meses, salienta-se que foram considerados apenas os animais em lactação dos rebanhos avaliados. Embora as médias entre infestação e idade dos animais não tenham sido significativamente diferentes, houve correlação positiva entre as variáveis. Resultados apresentados por Fraga *et al.* (2003) para os estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul corroboram o presente estudo, onde com o objetivo de avaliar o efeito de fatores de meio sobre a infestação de bovinos Caracu pelo carrapato, os referidos autores mostraram efeitos significativos para a variável idade dos animais. Nesse estudo, o número de carrapatos foi superior em animais de 1.893 dias (5,18 anos) e o nível de infestação, máximo para animais de 884 dias (2,42 anos). As avaliações de Gomes (1992) e Andrade *et al*. (1998) também foram significativas,

no entanto, os autores verificaram aumento linear no número de carrapatos, com o aumento da idade dos animais.

Não existem muitos trabalhos na literatura que demonstrem análises de relações entre fatores de manejo do sistema produtivo e o risco da ocorrência de carrapatos. Segundo Daher (2011), essa situação ocorre em função da dificuldade de coleta e análise de dados, uma vez que esse tipo de estudo demanda de vasto conhecimento em áreas diversas. São elas, metodologia de pesquisa social, uma vez que são necessárias elaboração de questionários que imprimam validade e confiança, análise qualitativa para o processo de classificação das variáveis, montagem de bancos de dados, ferramentas estatísticas de análises bastante complexas, especialmente por envolverem variáveis de natureza qualitativa e em grande número.

De maneira geral, o que se observa são resultados acerca de fatores associados à resistência de populações aos carrapaticidas utilizados. De certa forma esse dado pode amparar o presente estudo, uma vez que a ocorrência de altas infestações de carrapatos representa justamente uma resposta a ineficiência ou uso inadequado do método de controle, que na região de estudo, como pode ser visto nos resultados do presente trabalho, se dá em sua grande maioria por meio de quimioterápicos convencionais.

Estudos realizados no estado do Rio de Janeiro com o objetivo de analisar os métodos de controle empregados em sistemas de produção de leite, relatam que as variáveis climáticas, a maior lotação animal por hectare, a altura das pastagens e o grau de sangue dos animais, influenciaram na ocorrência estacional do carrapato. Os autores destacaram ainda, o fato de não haver grande preocupação por parte dos proprietários com a eficiência dos tratamentos acaricidas, o que resultou na ineficiência do controle e um aumento de gasto, em virtude do elevado número de tratamentos utilizados nas propriedades (SANTOS JR, *et al.*, 2000). Situação semelhante pode ser observada no presente estudo, onde nitidamente se percebe o uso demasiado e sem critérios de produtos químicos para o controle do parasito, em especial na relação vista entre ocorrência da infestação e a troca de princípio ativo. Estas ações, corroboradas pelo estudo da região Fluminense, predispõem riscos de contaminação dos produtos, do meio ambiente, do homem e desenvolvimento de cepas de carrapatos resistentes.

No Rio Grande do Sul, Santos *et al.* (2009), estudaram a percepção dos produtores daquela região, acerca da identificação de populações de carrapatos de

difícil controle com carrapaticidas, bem como fatores de risco para a seleção de populações resistentes. Como resultado, os autores citam associação entre dificuldade de controle com o grau de instrução do proprietário e o número de aplicações durante o ano. Essa informação corrobora a relação vista entre a infestação, uso de quimioterápico e a indicação do produto, uma vez que como relatado anteriormente, na região de estudo, muitas vezes essa tomada de decisão é feita pelo produtor de maneira empírica ou com indicação de terceiros, sem qualquer respaldo técnico.

No presente estudo, a partir da análise descritiva dos dados, percebeu-se que 67 % das ocorrências do carrapato foram nas propriedades em que se usava apenas quimioterápicos convencionais. Essa é a prática de controle do carrapato comumente observada nas propriedades rurais (FERRETTO, 2013; SANTOS *et al*., 2015; ANDREOTTI *et al*., 2016), uma vez que nesse estudo, pode-se observar que 61 % dos produtores relataram uso de quimioterápicos de modo exclusivo ou associado com homeopatia (22 %) (tabela 1).

Tabela 1. Relação do registro de infestações de carrapatos (mais de 100 teleóginas) nos rebanhos leiteiros e práticas de controle deste parasito utilizados em propriedades de Curitibanos, Planalto serrano Catarinense.

Propriedade	Infestação Carrapatos (> 100 no rebanho)	Método(s) de controle
P01	Sim	Quimioterápico convencional (Q. C.)
P02	Não	Quimioterápico convencional (Q. C.)
P03	Sim	Homeopatia + Q. C.
P04	Sim	Homeopatia + Q. C.
P05	Sim	Quimioterápico convencional (Q. C.)
P06	Sim	Quimioterápico convencional (Q. C.)
P07	Sim	Quimioterápico convencional (Q. C.)
P08	Não	Quimioterápico convencional (Q. C.)
P09	Não	Quimioterápico convencional (Q. C.)
P10	Não	Homeopatia
P11	Sim	Quimioterápico convencional (Q. C.)
P12	Não	Homeopatia
P13	Não	Rodízio de piquetes (exclusivamente)
P14	Não	Quimioterápico convencional (Q. C.)
P15	Sim	Homeopatia + Q. C.
P16	Não	Homeopatia + Q. C.
P17	Não	Quimioterápico convencional (Q. C.)
P18	Sim	Quimioterápico convencional (Q. C.)

Fonte: Elaborado pelo autor.

O uso sem critérios e indiscriminado de carrapaticidas químicos, acaba por inviabilizar esse método de controle. Essa prática largamente utilizada pelos produtores, implica diretamente na possibilidade da seleção de populações de carrapatos resistentes a inúmeros princípios ativos disponíveis no mercado. Dessa forma, os resultados permitem sugerir que esse problema pode estar acontecendo nas propriedades leiteiras do município, visto que quando são adotadas medidas alternativas de manejo, não houveram registros de altas infestações de carrapato nos rebanhos. O emprego de métodos alternativos para o controle do carrapato tem sido tratado com objetivo de melhorar as condições dos sistemas de produção pecuária e disponibilizar aos produtores ferramentas aliadas (SANTOS *et al*., 2015).

Destaca-se ainda que atualmente o uso de produtos homeopáticos no sal mineral vem sendo considerado, sobretudo nas propriedades de pequeno porte, uma alternativa para mitigar o uso de produtos químicos que, além de serem dispendiosos, possuem capacidade de deixar resíduos na carne e leite, bem como contaminações ambientais, prejudicando toda a cadeia alimentar, e os indivíduos que manejam os produtos (SANTOS *et al*., 2015).

Estudos realizados com bovinos leiteiros em um assentamento no estado de Minas Gerais testou o controle de infestação de carrapatos com homeopatia comparado ao controle convencional, pela utilização de nosódios fornecidos no sal, método semelhante ao relado pelos produtores de Curitibanos. Os resultados no estado mineiro apontam que a população de teleóginas foi menor no grupo de controle convencional durante os três meses de avaliação. Porém, os autores enfatizam que ambos os tratamentos apresentaram queda na população de teleóginas, sendo o grupo do homeopático com queda de 55% e o controle convencional com 52%. No entanto os autores destacam que o número de amostras foi pequeno e um curto período de tempo, necessitando demais contagens durante o ano para acompanhar a dinâmica populacional dos carrapatos, além de um número maior de animais/rebanhos (NEVES, *et al*., 2009).

De forma similar, os resultados obtidos no presente trabalho são considerados preliminares, uma vez que não houve controle de variáveis relacionadas, ou seja, um experimento específico voltado à verificação da eficiência dos produtos homeopáticos utilizados. O que se fez foi uma análise descritiva geral, a qual permitiu relacionar o uso do homeopático, com a ocorrência da infestação nas propriedades.

Um dos primeiros relatos científicos sobre influência positiva do uso de preparados homeopáticos sobre carrapatos em bovinos, foi realizado e publicado no Brasil na década de 1980 (VERÍSSIMO, 1988). Desde então, alguns autores buscam explicar cientificamente o emprego desse método. Em 2005, Magalhães Neto *et al*., e Signoretti *et al*. Em 2013, relataram que grupos de bovinos parasitados por carrapatos, tratados com homeopatia apresentaram redução na infestação e assim necessitaram menor controle com acaricidas químicos (alopáticos).

No entanto, comparado a estudos com produtos convencionais (químicos), ainda são poucos resultados gerados a partir do método científico relacionados aos homeopáticos. O que geralmente se têm, são relatos do uso da homeopatia atrelado a atitudes isoladas dos produtores, que fazem uso desse método, divulgam seus resultados de "sucesso" obtidos, aos demais produtores bem como extensionistas e técnicos que eventualmente os acompanham (MORAIS, 2014). Essa afirmativa pode ser corroborada em função dos relatos de indicação fornecidos pelos produtores desse estudo, uma vez que frequentemente definem o manejo do seu rebanho, baseado na propriedade vizinha, sem considerar/conhecer de maneira técnica a situação epidemiológica particular dos seus animais.

Nesse sentido, considerando que o presente estudo foi feito a partir de relatos dos produtores e tendo em vista os diversos fatores econômico-culturais envolvidos, destaca-se a importância de que estudos pontuais sejam realizados nos rebanhos, afim de identificar a real eficácia dos métodos alternativos que vêm sendo utilizados nas propriedades leiteiras do município, bem como a real influência das variáveis relacionadas. Recomenda-se ainda, estudos complementares sobre resistência aos quimioterápicos, bem como assistência técnica especializada para a orientação dos produtores, permitindo a adoção de práticas de manejo sanitário mais eficazes e seguras.

4. CONCLUSÃO

Em Curitibanos há o uso indiscriminado de carrapaticidas químicos nas propriedades leiteiras, frequentemente sem medidas alternativas associadas, sendo a única preocupação dos produtores, o uso de moléculas sem carência, para evitar o descarte do leite. Conclui-se ainda que há relação entre as práticas de controle do carrapato e a ocorrência do parasito nas propriedades, com uma tendência à maiores infestações quando há apenas o uso de quimioterápicos.

REFERÊNCIAS

ANDREOTTI, R., *et al*. Proposta de controle de carrapatos para o Brasil Central em sistemas de produção de bovinos associados ao manejo nutricional no campo - [Recurso eletrônico] – Documentos/Embrapa Gado de Corte; 264), Campo Grande, MS, 34p. 2016.

DAHER, D. O. Fatores associados à resistência do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) no Sul de Minas Gerais. 2011. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Lavras - UFLA, Lavras, Mg, 2011.

EPAGRI – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. Números da Agropecuária catarinense. 2018. Florianópolis, SC. 75p. 2018

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Atlas climático da Região Sul do Brasil: Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Editores técnicos: Wreg, M.S.; Steinmetz, S.; Reisser, J., C.; Almeida, I.R. Pelotas: Embrapa Clima Temperado; Colombo: Embrapa Florestas, 2011.

FERRETTO, R. Revisão de literatura sobre *Rhipicephalus (Boophilus)* microplus. 2013. 46f. Monografia (Graduação) Curso de Medicina Veterinária - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2013.

FRAGA, A. B., *et al*. Análise de fatores genéticos e ambientais que afetam a infestação de fêmeas bovinas da raça Caracu por carrapatos *(Boophilus microplus*). Revista Brasileira de Zootecnia, [s.I.], v. 32, n. 61, p.1578-1586, dez. 2003. Fap UNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/s1516- 35982003000700006.

GRISI, L. *et al.* Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. Brazilian Journal of Veterinary Parasitology 23:2:150-156. 2014.

IBGE. Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística/Diretoria De Pesquisas, Coordenação De Agropecuária. Pesquisa da Pecuária Municipal 2017. Rio de Janeiro 45:1-8. 2017.

MAGALHÃES NETO, M. A.; BENEDETTI, E.; DINIZ, D.; CABRAL, D. D. Homeopatia no controle de carrapatos em bovinos leiteiros. Revista Horizonte Científico, v.2, p. 5, 2005.

MORAIS, P. G. S. de. Homeopatia no controle de carrapatos (*Rhipicephalus microplus*) em bovinos mestiços leiteiros. 2014. 39f. Dissertação (mestrado) – Curso Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias – Universidade Federal de Uberlândia – UFU. Uberlândia, MG, 2014.

NEVES, H. H.; MATA, M. G. F.; MELLO, D. F. M. Manejo Agroecológico de Carrapato com a Utilização de Preparados Homeopáticos em Assentamento de Reforma Agrária. Rev. Bras. De Agroecologia, v. 4, n. 2, p. 22278 – 2281, 2009.

PASCOETI, R. *et al.* Parasites in dairy cattle farms in southern Brazil: semi-extensive and freestall systems. Revista MVZ Córdoba 21:2:5304-5315. 2016.

SANTOS JUNIOR, J. C. B.; FURLONG, J.; DAEMON, E. Controle do carrapato *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em sistemas de produção de leite da microrregião fisiográfica Fluminense de Grande Rio – Rio de Janeiro. Ciência Rural, Santa Maria. v. 30, n. 2, p. 305-311, 2000.

SANTOS, T. R. B. dos. *et al*. Evaluation of the efficacy of products isoterapicos in control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Arq. Inst. Biol. 82:1-5.2015.

SANTOS, T. R. B dos. *et al*. Abordagem sobre o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no sul do Rio Grande do Sul. Pesquisa Veterinária Brasileira, [s.l.], v. 29, n. 1, p.65-70, jan. 2009.

SIGNORETTI, R. D. *et al*. Desempenho e aspectos sanitários de bezerras leiteiras que receberam dieta com ou sem medicamentos homeopáticos. São Paulo. Arq. Inst. Biol. V. 80, p. 370-392, 2013.

VERÍSSIMO, C. J. Utilização do nosódio *Carrapatinum* em bovinos sensíveis ao carrapato *Boophilos microplus* (Canestrini). Pesquisa Homeopática. 1988.

CAPÍTULO 17

INFLUENCE OF POST-HARVEST OZONE APPLICATION ON THE EPICARP OF 'PEDRO SATO' GUAVA FRUITS UNDER STORAGE CONDITIONS.

Rodrigo de Oliveira Simões
Phd in Agricultural Engineering from the Federal University of Viçosa
Institution: Federal University of Pernambuco – UFPE
Address: Avenue of economists, s/n - Department of Chemical Engineering - University City, Recife - PE, Brazil
E-mail: rodrigoosimoes@gmail.com/ rodrigo.osimoes@ufpe.br

Alisson Santos Lopes da Silva
Master in Phytotechnics from the Federal University of Viçosa
Institution: Federal University of Viçosa - UFV
Address: Avenue Peter Henry Rolfs, s/n - Phytotechnics Department - University Campus, Viçosa - MG, Brazil
E-mail: alissonufv@gmail.com

Lêda Rita D'Antonino Faroni
PhD in Agronomy from Universitat Politècnica de València Institution: Federal University of Viçosa - UFV
Address: Avenue Peter Henry Rolfs, s/n - Agricultural Engineering Department - University Campus, Viçosa - MG, Brazil
E-mail: lfaroni@ufv.br

Luiz Carlos Chamhum Salomão
PhD in Agricultural Sciences (Plant Physiology) from the Federal University of Viçosa
Institution: Federal University of Viçosa - UFV
Address: Avenue Peter Henry Rolfs, s/n - Phytotechnics Department - University Campus, Viçosa - MG, Brazil
E-mail: lsalomao@ufv.br

Paulo Roberto Cecon
PhD in Statistics from University of São Paulo
Institution: Federal University of Vicçosa – UFV
Address: Avenua Peter Henry Rolfs, s/n – Statistics Department – University Campus, Viçosa – MG, Brazil.
E-mail: cecon@ufv.br

Gutierres Nelson Silva
PhD in Phytotechnics from the Federal University of Viçosa
Institution: Federal Institute of Education, Science and Technology of Mato Grosso do Sul, IFMS
Address: Highway MS 473, km 23, s/n - Santa Bárbara Farm - Nova Andradina/MS, Brazil
E-mail: gutierres.silva@ifms.edu.br

Márcia Monteiro dos Santos
Graduate in Full Degree in Chemistry from the Federal Rural University of Pernambuco
Institution: Federal University of Pernambuco – UFPE
Address: Avenue of economists, s/n - Department of Chemical Engineering - University City, Recife - PE, Brazil
E-mail: marcia_quimic@ig.com.br

Ronaldo Paulo Monteiro
Graduate in Chemistry from the Federal Rural University of Pernambuco Institution: Federal University of Pernambuco – UFPE
Address: Avenue of economists, s/n - Department of Chemical Engineering - University City, Recife - PE, Brazil
E-mail: ronaldo2284@hotmail.com

ABSTRACT: The expanding concern of consumers and public health authorities about the presence of pesticide residues on food has encouraged research on alternative methods to control post- harvest diseases. The objective of this study was to evaluate the influence of post-harvest ozone application on the sensibility of 'Pedro Sato' guava fruits under storage conditions. The experiments were performed in split-plot scheme: the plots were ozone concentrations (0, 65, 95, 185, 275, 370 and 460 μg L^{-1}) injected at 2 L min^{-1} into a fumigation chamber, and subplots were days of evaluation or harvest (0, 1, 3, 5, 7 and 9 days) in a completely randomized design with 3 replicates. 'Pedro Sato' guava fruits responded to ozone-induced oxidative stress at concentrations higher than 185 μg L^{-1}, causing visible anomalies, with green intervenal spots and red-brownish pustule on the epicarp. Although the mechanisms of ozone application on guava fruits are not entirely elucidated, it is known that the mechanisms that justify the leaf symptoms on this crop, exposed to different ozone concentrations, may help clarifying the observed anomalies on the epicarp when fruits are subjected to post-harvest ozone application.

KEYWORDS: Ozone; Post-harvest periodization; Guava; Oxidative stress.

RESUMO: A crescente preocupação dos consumidores e autoridades de saúde pública sobre a presença de resíduos de pesticidas nos alimentos incentivou a pesquisa de métodos alternativos para controlar as doenças pós-colheita. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da aplicação de ozônio pós-colheita na sensibilidade de goiabas 'Pedro Sato' em condições de armazenamento. Os experimentos foram realizados em esquema de parcelas subdivididas: as parcelas foram concentrações de ozônio (0, 65, 95, 185, 275, 370 e 460 μg L^{-1}) injetadas a 2 L min-1 em uma câmara de fumigação, e as subparcelas foram dias de avaliação ou colheita (0, 1, 3, 5, 7 e 9 dias), em delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições. A goiabeira 'Pedro Sato' respondeu ao estresse oxidativo induzido pelo ozônio em concentrações superiores a 185 μg L^{-1}, causando anomalias visíveis, com pontos de intervenção verdes e pústula marrom-avermelhada no epicarpo. Embora os mecanismos de aplicação de ozônio em goiabeiras não sejam totalmente elucidados, sabe-se que os mecanismos que justificam os sintomas foliares desta cultura, expostos a diferentes concentrações de ozônio, podem ajudar a esclarecer as anomalias observadas no epicarpo quando os frutos são submetidos a pós aplicação de ozônio de colheita.

PALAVRAS-CHAVE: Ozônio; Periodização pós-colheita; Goiaba; Estresse oxidativo.

1. INTRODUCTION

Over the last years, Brazilian agriculture has integrated to its activities new crop species, as well as expanding production areas. One of these activities it fruit farming, due to the increasing fruit demand from the population who seek a more balanced and healthy diet. Among the many fruit tree species, guava stands out by its excellent quality and acceptance.

'Pedro Sato' cultivar has an outstanding position both in the national and international market due to its economic importance for fresh consumption, thereby resulting in great productivity, and specially for fresh juice production, due to its high nutritive value associated with a pleasant taste, attractive color, and high vitamin C content (SOUZA & NETO, 2009).

Ripening is the most studied phase in fruit post-harvest field because in this phase composition changes occur with great intensity. It must be noted that the product which will receive any type of post-harvest technology should have great quality, otherwise several fungal and bacterial diseases and physiological disorders will lead to immeasurable post-harvest losses (SILVA, 1982; EVANGELISTA, 1999).

Anthracnose, a disease caused by the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*, is a challenge even in fruit allocated to exportation which were subjected to a phytosanitary treatment (LIMA FILHO *et al.,* 2003), since the fungus survives at least one year in soil, plant and old fruit and leaf lesions (BAILEY *et al.*, 1992). Hence, pathological deteriorations during post-harvest are considered the main reason for economic and fruit quality losses along the marketing chain.

Alternative control methods for post-harvest diseases can decrease or substitute the use of chemical products, following the world concern about environment and food security. Among such alternative methods, ozone under gaseous form or dissolved in water has stood out for its important performance on the reduction of apple rot incidence (PUIA *et al.*, 2004), on the increase of kaki shelf life (SALVADOR *et al.*, 2006) and on the decrease of bacterial load on strawberries and raspberries (BIALKA *et al.*, 2007).

Guava leaves (*Psidium guajava* L.) 'Paluma' stand out by showing great susceptibility to atmospheric ozone (FURLAN *et al.*, 2007), with visible symptoms

characterized by dark dotted color (reddish) on its upper surface, which allows the use of such species as ozone pollution bioindicator. Although leaves from 'Paluma' guava demonstrated such behavior and leaves from 'Pedro Sato' guava responded with less intensity to ozone-induced oxidative stress (MORAES *et al*., 2011), little is known about fruit sensibility after gaseous ozone exposure.

Therefore, the objective of this study was to evaluate gaseous ozone effect on the sensibility of the epicarp of 'Pedro Sato' guava fruits to different concentrations of ozone, under storage conditions.

2. MATERIAL AND METHODS

We have used ‘Pedro Sato’ guava fruits that were harvested in the maturation stage 1 (dark green skin) (AZZOLINI *et al*., 2004) and physiologically developed, with mean hue angle (°h) of 117.76 °h at harvest. Guava fruits were selected and standardized according to their maturation stage and absence of anomalies, and then subjected to disinfection with 2 % sodium hypochlorite (NaClO) solution, and placed on counters to dry under laboratory conditions.

Gaseous ozone was obtained from an ozone generator (Figure 1) based on the dieletric discharge method, developed by the Department of Physics from the Technological Institute of Aeronautics (ITA), São José dos Campos, SP, Brasil. We used, as an input source, humidity- free oxygen with purity of 90±3 %, derived from a Mark 5 Oxygen Concentrator.

Figure 1 - Oxygen concentrator and ozone generator.

Fonte: Os Autores

Ozone concentration was determined through the iodometric method (CLESCERL *et al*., 2000).

In order to evaluate the effect of ozone application on fruit sensibility, the gas was injected at concentrations of 0, 65, 95, 185, 275, 370 and 460 µg L^{-1} at 2 L min^{-1} for 60 min, into the fumigation chambers containing 48 fruits (Figure 2). Thereafter, the fruits were packaged in expanded polystyrene trays, inside plastic boxes, where they remained for nine days, under ambient conditions (23±2 °C e 70±2 % UR).

Figure 2 - Fumigation chambers (maximum capacity: 60 L) developed and manufactured entirely with acrylic material with sealing system composed of silicone contours and fast clamps. Each chamber accommodated 48 guava fruits**.**

Fonte: Os Autores

Subsequently to the storage period, fruits were relocated to the Laboratory of Structural Biology for their exterior aspect imaging analysis. Images were generated with a Nikon D700 camera attached to a binocular stereoscopic lens (1.0 and 5.0X magnification) Olympus Model SZH10. The following variables were used in the exterior aspect of ‘Pedro Sato’ guava fruits: color and epicarp firmness.

2.1. EXPERIMENTAL DESIGN

The experiment was performed in split-plot scheme, with plots being ozone concentrations (0, 65, 95, 185, 275, 370 and 460 μg L^{-1}) and subplots being the evaluation or harvest days (0, 1, 3, 5, 7 and 9 days) in a completely randomized design with 3 replicates of 5 fruits per experimental unit. Data were subjected to descriptive analysis using the Sistema para Análises Estatísticas, SAEG 9.0 software (SAEG, 2007).

3. RESULTS AND DISCUSSION

Ozone-induced anomalies were characterized by green spots and presence of red- brownish pustules on fruit epicarp (Figure 3). Such anomalies were observed four days after ozone exposure at concentrations higher than 185 μg L^{-1}. As the storage period and the maturation process progressed, the anomalies started to become more noticeable, but restricted to the fruit epicarp. Similar symptoms were described by several researchers (FURLAN *et al*., 2007 PINA & MORAES, 2007, 2011; TRESMONDI & ALVES, 2011) when reporting the effect of ozone in ‘Paluma’ and ‘Pedro Sato’ guava fruits (MORAES *et al*., 2011). Therefore, the anomalies observed in the present study are in accordance with the standard found in the literature (SÁNCHES *et al*., 2002; NOVAK *et al*., 2003).

Figure 3 - ‘Pedro Sato’ guava fruits with epicarp anomalies, caused by ozone application at concentrations of 0, 65, 95, 185, 275, 370 e 460 μg L^{-1} after nine days of storage. Images: José Lino Neto.

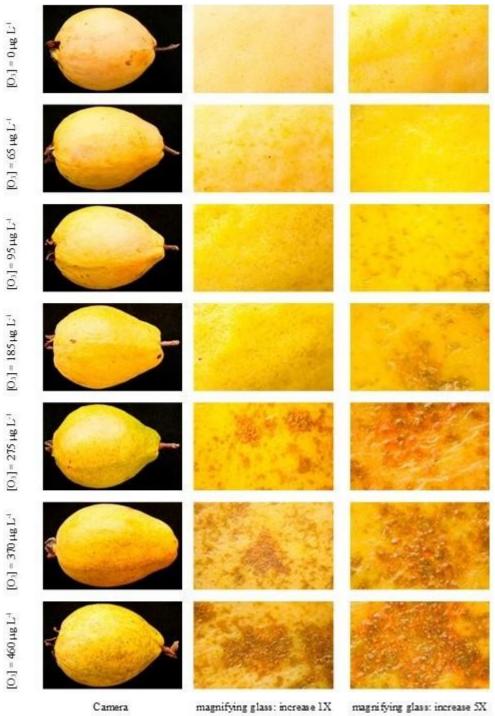
Fonte: Os Autores.

There is no information about the physiological disturbances that may lead to skin (epicarp) anomalies of guava fruits, regardless the variety, subjected to ozone application.

The expression of symptoms such as red-brownish spots are commonly named pigmentation or tanning, being a chronical injury resulting from the development and collection of phenolic pigments inside the cells, like anthocyanins, polymerized quinones, or proteins (KRUPA & MANNING, 1988; HEATH *et al*., 2009).

When plants absorb ozone, it can lead to an intensive chain production of reactive oxygen species (ROS) (MUDD, 1996; PELL *et al*., 1997). ROS are characterized in a chemical group that acts as a oxidative agent, including oxygen radicals (superoxide radical - O_2•, hydroxyl radical - OH•, and hydroperoxyl radical - HO_2•) and oxygen derived non-radicals (hydrogen peroxide H_2O_2 and singlet oxygen $^1O_2$) (MITTLER, 2002; HALLIWELL, 2006).

Although the mechanisms of ozone application on guava fruits are not entirely elucidated, it is known that the mechanisms that justify the leaf symptoms on this crop, exposed to different ozone concentrations, may help clarifying the observed anomalies, such as green spots red-brownish pustule development (Figure 4), on fruit epicarp under post- harvest ozone application.

Figure 4 - ‘Pedro Sato’ guava fruits presenting typical anomalies on te epicarp, caused by ozone application at concentrations of 0, 65, 95, 185, 275, 370 e 460 µg L^{-1} after nine days of storage. Images: José Lino Neto.

Fonte: Os Autores.

Due to the visual aspect of the epicarp, ‘Pedro Sato’ guava fruits became unfit for fresh consumption, but they can be used for industrial purposes. The anomalies observed in the present studies were restrained to the fruit epicarp, and may have not affected its pulp; similar conditions as girdling (WATANABE *et al.*, 2011).

4. CONCLUSIONS

‘Pedro Sato’ guava fruits responded ozone-induced oxidative stress at concentrations higher than 185 µg L^{-1}, which lead to visible injuries with development of green spots and red- brownish pustules on the fruit epicarp.

ACKNOWLEDGEMENTS

Agricultural Engineering Department – DEA at the Agricultural Sciences Center – CCA from the Federal University of Viçosa – UFV and the Chemical Engineering Department – DEQ at the Technology and Geosciences Center – CTG from the Federal University of Pernambuco – UFPE. N° 50328262832 – Ozone as post-harvest technology of ‘Pedro Sato’ guava conservation.

REFERENCES

AZZOLINI, M.; JACOMINO, A. P.; BRON, I. U. (2004). Índices para avaliar qualidade pós-colheita de goiabas em diferentes estádios de maturação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 39(1), 139-145.

BAILEY, J. A.; O'CONNELL, R. J.; PRING, R. J.; NASH, C. (1992). Infection strategies of Colletotrichum species. In: BAILEY, A. J.; JEGER, J. M. Colletotrichum: biology, pathology and control. **Oxford: British Society for Plant Pathology**, 1(1), 88-120.

BIALKA, K. L.; DEMIRCI, A. (2007). Utilization of Gaseous Ozone for the Decontamination of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella on Raspberries and Strawberrries. **Journal of Food Protection**, 70(1), 1093-1098.

CLESCERL, L. S.; GREENBERG, A. E.; EATON, A. D. (2000). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Denver: Americam Water Works Association.
EVANGELISTA, R. M. (1999). **Qualidade de mangas 'Tommy Atkins' armazenadas sob refrigeração e tratadas com cloreto de cálcio**. Lavras: UFLA.

FURLAN, C. M.; MORAES, R. M.; BULBOVAS, P.; DOMINGOS, M.; SALATINO, A.; SANZ, M. J. (2007). Psidium guajava 'Paluma' (the guava plant) as a new bio-indicator of ozone in the tropics. **Environmental Pollution**, 147(1), 691-695.

HALLIWELL, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**, 141(1), 312-322.

HEATH, R. L.; LEFOHN, A. S.; MUSSELMAN, R. C. (2009). Temporal processes that contribute to nonlinearity in vegetation responses to ozone exposure and dose. **Atmospheric Environment**, 43(1), 2919-2928.

KRUPA, S. V.; MANNING, W. J. (1988). Atmospheric ozone: formation and effects on vegetation. **Environmental Pollution**, 50(1), 101-137.

LIMA FILHO, R. M.; OLIVEIRA, S. M. A.; MENEZES, M. (2003). Caracterização enzimática e patogenicidade cruzada de Colletotrichum spp. associados a doenças de pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira**, 28(1), 620-625.

MITTLER, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, 7(1), 405-410.

MORAES, R. M.; FURLAN, C. M.; MEIRELLES, S. T.; SANTOS, D. Y. A. C.; SOUZA, S. R.; VIOLA, S. R. A. S.; REZENDE, F. M.; BARBOSA, J. M.; DOMINGOS, R. L. (2011). Avaliação da sensibilidade da goiabeira 'Pedro Sato' ao ozônio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 46(1), 971-978.

MUDD, J. B. (1996). **Biochemical basis for the toxicity of ozone**. In: M. Yunus & M. Iqbal (eds.). Plant Response to Air Pollution. Jonh Wiley & Sons Ltd., New York, p.267-283.

NOVAK, K., SKELLY, J. M., SCHAUB, M., KRÄUCHI, N., HUG, C.; LANDOLT, W.; BLEULER, P. (2003). Ozone air pollution and foliar injury development on native plants of Switzerland. **Environmental Pollution**, 125(1), 41-52.

PINA, J. M.; MORAES, R. M. (2007). Ozone-induced foliar injury in saplings of Psidium guajava 'Paluma' in São Paulo, Brazil. **Chemosphere**, 66(1), 1310-1314.

PUIA, C.; OROIAN, I.; FLORIAN, V. (2004). Effect of Ozone Exposure on Phytopathogenic Microorganisms on Storage Aplles. **Journal of Agricultural Sciences**, 15(1), 9-13.
SAEG – **Sistema para Análises Estatísticas**, (2007). Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa.

SALVADOR, A.; ABAD, I.; ARNAL, L.; MATÍNEZ-JÁVEGA, J. M. (2006). Effect of Ozone on Postharvest Quality of Persimmon. **Journal of Food Science**, 71(1), 443-446.

SÁNCHES, M. J. S.; PEÑA, G. S.; LORENTE, V. C.; GALLEGO, T. M.; ALBERT, J. C. (2002). La contaminación atmosférica de los bosques: **Guía para la identificación de los daños visibles causados por Ozono**. Madrid: Ministerio del Medio Ambiente.

SILVA, M. P. F. (1982). Manejo pós-colheita da manga. Belo Horizonte. **Informe Agropecuário**, 8(1), 45-47.

SOUZA, R. C.; AMATO NETO, J. (2009). As transações entre supermercados europeus e produtores brasileiros de frutas frescas. **Gestão & Produção**, 16(1), 489-501.

TRESMONDI, F.; ALVES, E. S. (2011). Structural changes in Psidium guajava 'Paluma' leaves exposed to tropospheric ozone. **Acta Botanica Brasilica**, 25(1), 542-548.

WATANABE, T.; ROZANE, D. E.; NATALE, W.; FURLAN, C. (2011). M. Avaliação da influência de substâncias fenólicas e carotenóides na anomalia do epicarpo da goiaba, "anelamento". **Revista Brasileira de Fruticultura**, 33(1), 8-13.

CAPÍTULO 18

PREPARATION OF GOURMET JAM MADE OF RED FRUIT WITH GINGER, PHYSICAL-CHEMICAL, MICROBIOLOGICAL AND SENSORIAL CHARACTERIZATION.

Eliana Moreira
Técnico em agroindústria
Instituição: Instituto Federal de Santa Catarina.
Endereço: Rua Fermino Pedro Vanzin, 51 D – Universitário Chapecó - SC, Brasil
E-mail: moreira_eliana@hotmail.com

Andréia Paula Dal Castel
Tecnóloga em Alimentos
Instituição: Faculdade SENAI Chapecó. Serviço - Nacional de Aprendizagem Industrial de Santa Catarina, Graduação Tecnológica em Alimentos.
Endereço: Rua Frei Bruno, 201 E - Jardim América, Chapecó - SC, Brasil.
E-mail: andreia.pdc2304@gmail.com

Andressa Barella de Freitas
Especialista em tecnologia e inovação
Instituição: Faculdade SENAI Chapecó. Serviço - Nacional de Aprendizagem Industrial de Santa Catarina, Graduação Tecnológica em Alimentos.
Endereço: Rua Frei Bruno, 201 E - Jardim América, Chapecó - SC, Brasil.
E-mail: andressa.freitas@sc.senai.br

Elisa Sonza
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Instituição: Faculdade SENAI Chapecó. Serviço - Nacional de Aprendizagem Industrial de Santa Catarina, Graduação Tecnológica em Alimentos.
Endereço: Rua Frei Bruno, 201 E - Jardim América, Chapecó - SC, Brasil.
E-mail: elisasonza@edu.sc.senai.br

Josiane Kilian
Doutora em Engenharia de Alimentos;
Instituição: Conformità Engenharia
Endereço: Rua Antônio Siqueira 2589E- Parque das Palmeiras, Chapecó- SC, Brasil.
E-mail: josi_kilian@yahoo.com.br

Josiane Betat da Silva
Mestre em Engenharia de Alimentos
Instituição: Faculdade SENAI Chapecó. Serviço - Nacional de Aprendizagem Industrial de Santa Catarina, Graduação Tecnológica em Alimentos.
Endereço: Rua Frei Bruno, 201 E - Jardim América, Chapecó - SC, Brasil.
E-mail: josi@sc.senai.br

Crivian Pelisser
Mestre em Ciências Ambientais
Instituição: Faculdade SENAI Chapecó. Serviço - Nacional de Aprendizagem Industrial de Santa Catarina, Graduação Tecnológica em Alimentos.
Endereço: Rua Frei Bruno, 201 E - Jardim América, Chapecó - SC, Brasil.
E-mail: crivian.pelisser@edu.sc.senai.br

* Corresponded author
Creciana Maria Endres
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Instituição: Faculdade SENAI Chapecó. Serviço - Nacional de Aprendizagem Industrial de Santa Catarina, Graduação Tecnológica em Alimentos.
Endereço: Rua Frei Bruno, 201 E - Jardim América, Chapecó - SC, Brasil.
E-mail: creciana.maria@gmail.com

ABSTRACT: Extra gourmet jams serve a demanding public in terms of quality aspects, as this type of jam does not have preservatives, stabilizers, and gums in its formulation. The objective is to develop the physical-chemical, microbiological, and sensory characterization of a strawberry and raspberry jam with ginger. The strawberry, red and black raspberry pulps are a source of nutrients and vitamins, and grated ginger root, which is famous for its anti-inflammatory properties, was used for the preparation of gourmet jam, in addition to vanilla extract, pectin, and sucrose. Regarding the physical-chemical characterization, the content of total soluble solids, pH, moisture, and ash was determined, all in duplicate, following the methodology proposed by the Adolfo Lutz Institute. The microbiological analysis of molds and yeasts was performed according to the methodology proposed by Brazilian Normative Instruction N° 62 (December 29, 2011). For the sensory acceptance, a 9-point hedonic scale and a 5-point hedonic scale were used for purchase intention. The microbiological results were in line with that recommended by RDC N°12 (January 2, 2001), and the sensory evaluation showed that the product has a good acceptance and a high percentage of purchase intention. The content of soluble solids was 50%, and the legislation recommends the content from 62% to 65%. The moisture content was higher than the recommended, and this is attributed to the low percentage of sucrose used in the formulation to avoid the crystallization of the final product. *Clean label* food is a trend in the consumer market due to their healthy appeal, the proposal of red fruit jam with ginger brings this concept as a priority, but further studies have suggested the replacement of sucrose by another sweetener constituent, with the aim of increase the content of soluble solids and decrease the moisture content of the final product.

KEYWORDS: quality, *clean label*, healthy.

1. INTRODUCTION

The current scenario is an opportunity for innovation with benefit for the food industry, characterized by the growing demand for practical and convenient food, mainly healthier and tastier. Today's consumers are increasingly interested to know and understand what types of food they are bringing to their table, what ingredients and also what implications these ingredients will have on their health. Many additives are being rejected by this consumer profile. However, additives are important when it comes to making industrialized food on a large scale.

Clean label food enters the scene to serve this new consumer. A food trend that emerged about ten years ago in Europe and the United States, driven by the increasing desire of consumers to acquire a healthier lifestyle (BLUM et al., 2012).

These types of food are formulated with special care, having in their composition only natural ingredients, i.e. free from artificial additives and a label of simple and easy to understand ingredients. An important effort is required in the selection of the appropriate raw material and manufacturing technology to obtain quality and safe food, free from chemical, physical and microbiological contamination, and with good sensory characteristics.

The Brazilian Food Law defines fruit jam as "a product obtained by cooking whole or in pieces, fruit pulps or juices, with sugar and water, and concentrated to a gelatinous consistency". The classification adopted by the legislation determines that a jam can be common or extra. Jams considered extra are prepared in a proportion of fifty parts of fresh fruit or its equivalent to fifty parts of sugar.

This type of red fruit jam fits into the extra classification, with the differential - gourmet jam - a product of limited production, the proportion of 68 % fruit and 32 % sugar, high-quality raw material, with unique characteristics, with a “Premium” positioning, and product with added value.

Fruit jam is a product with good sensory acceptance and with a high added value (gourmet), with a market that has been growing in search of processed products with excellent nutritional quality.

Berries are a great source of nutrients, vitamins, and minerals. A balanced diet characterized by the consumption of red fruits, combined with physical activities, protects the body from many diseases. This habit of consuming red fruits can prevent many types of diseases, such as cardiovascular, stroke, cancerous, stomach, cystitis,

prevents premature skin aging, and anti-inflammatory properties. Their consumption improves the immune system, making the body more resistant. The redder the fruit is, the richer in phenolic and mineral compounds. Also, a source of calcium, phosphorus, potassium, fiber, vitamins A and C, and sources of ascorbic acid.

The term *berry fruits* refer to fruits such as strawberries, raspberries, blueberries, and blackberries. They have antioxidant power, conferred by the phenolic compounds present in them, in amounts that vary from species to species.

The color is the main characteristic, and varies from red to blue, due to the presence of natural pigments known as anthocyanins, which are soluble in water and distributed in plant tissues (GIUSTI; JING, 2007).

The strawberry tree is a perennial, creeping plant, belonging to the Rosacea family and of the genus Fragaria (GOMES, 2007). Its fruits are considered a pseudo-fruit, non-climacteric, of bright red color, due to the presence of anthocyanins; the slightly acidified flavor corresponds to citric and malic acids (SILVA, 2006). Strawberries are rich in vitamin C, an essential vitamin for the human organism, as it plays a fundamental role in the development and regeneration of muscles, skin, teeth, and bones, the formation of collagen, regulation of body temperature, production of hormones, metabolism in general (ANDRADE et al., 2002).

The active substances present in the fruit act in the prevention and/or cure of many diseases, and mainly: its diuretic effect and its anti-inflammatory activity in rheumatism and gout, antioxidant action (by phenolic compounds), and the ability to reduce susceptibility to infections (LIMA, 2014).

The raspberry belongs to the family Rosaceae, genus Rubus. Raspberry is among the main food with functional properties that have already been experimentally related to beneficial effects on cardiovascular diseases, atherosclerosis, and certain types of cancer, obesity, aging, and neurodegenerative diseases (SANTOS et al., 2011).

Phenolic compounds, and anthocyanins, present in raspberries, vary according to their color. The darker the more phenolic compounds; these contribute to the protection against degenerative diseases. The antioxidant activity is responsible for combating free radicals, which are produced in abundance by physiological processes, and resulting from external factors (MARCHI, 2015).

Ginger, whose scientific name is *Zingiber officinale*, is an herbaceous plant, of Asian origin, which reaches 1.50 meters height. Traditional and contemporary

medicine use ginger as a spice whose rhizome is widely marketed due to its industrial and food use, especially as a raw material for the manufacture of drinks, perfumes, and confectionery products, such as bread, cakes, cookies, and jams (ELPO, 2004).

Ginger has in its chemical composition volatile (terpenes), non-volatile (phenolic compounds and alkaloids), extractable oleoresins, fats, waxes, carbohydrates, vitamins, and minerals. Rhizomes contain a potent proteolytic enzyme called zigibain (SILVA NETO, 2012). It has several active components, 115 described, within these, the phenolic compounds, gingerol, and shoagol have been widely studied with different properties, such as antipyretic, analgesic, angiogenesis inhibitor, and immunomodulatory activities.

Several studies indicate that the compounds found in ginger are highly effective in relieving the symptoms of various diseases. Ginger has been used for centuries due to its anti-inflammatory properties.

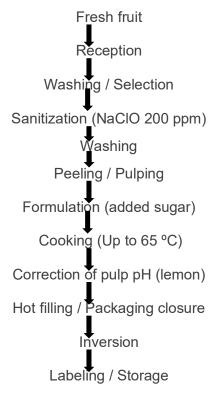
The health benefits of ginger, preferably fresh, are mainly due to the presence of phenolic compounds responsible for the pungent flavor. These are the gingerols (BENZIEL; WACHTEL; GALOR, 2011).

Thus, the objective of this work was to develop a formulation of gourmet jam made of red fruit and ginger, characterized in terms of microbiological, physical-chemical, and sensory parameters, assessing its potential in Brazilian consumer market, to provide the consumer more and more Clean Label food alternatives. A gourmet red fruit jam was developed to serve this new niche market, which is concerned with offering products with clean labels, paying special attention to current consumer requirements.

2. MATERIAL AND METHODS

The jam was made at the company Sweet Stuff - gourmet jams - located in the city of Xanxerê – SC (Brazil), and the physical-chemical, microbiological, and sensory analyzes in the didactic laboratories of the Faculty of Food Technology of SENAI - Chapecó – SC (Brazil). Fruit, the raw material used in the preparation of red fruit jam, was acquired in the organic garden owned by the company.

Important steps in the processing of red fruit jam with ginger were followed as shown in Figure 1.

Figure 1. Flowchart of the elaboration of gourmet red fruit jam with ginger.

Source: Author

The jam was made in the proportion of 68 %/32 % (pulp/sucrose). The sugar used was demerara, as it has greater sweetening power, offering more health benefits from the nutrients that are present in it. The jam was cooked in a stainless steel pan, with continuous manual stirring until the concentration of soluble solids of 50 ºBrix, measured in a refractometer. The jams were filled in glass containers with a capacity of 320 grams.

Table 1 shows the formulation of red fruit jam with ginger.

Table 1. Formulation of red fruit jam with ginger.

Ingredients	Amount
Strawberry (g)	500
Raspberries (red and black) (g)	250
Demerara sugar (g)	350
Vanilla extract (mL)	15
Lemon (mL)	30
Ginger (mL)	5

Source: Leteller, Laetitia (2014).

The jam pH was analyzed by using the potentiometric method, previously calibrated (standard solutions 4 and 7), moisture due to the loss of mass of the sample in an oven at 105 ± 2 ºC whose water and volatile substances were removed, total soluble solids (ºBrix) measured in portable refractometer 58~92 % ºBrix, Aw in Aqualab 4TEV apparatus, ash by muffle incineration at a temperature of 500 ºC – 600 ºC. All analyzes were performed in duplicate according to the methods recommended by Adolfo Lutz Institute (2008). The standards for microbiological analysis were based on RDC Nº 12 (January 2, 2001), for molds and yeasts. For the sensory acceptance, the 9-point hedonic scale method was used (“1” = dislike extremely, “5” = “neither like nor dislike”, “9” = “like extremely”), with the purchase intention on the five-point scale. The sensory evaluation was tested with 50 people of both genders, aged between 16 and 50 years, among professors and students of the institution Senai – SC (Brazil). The jam sample was served in a disposable cup, coded with random three-digit numbers. The jam was served with toasted bread, and a 100 mL glass of water to clean the taste in the sample evaluation.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 PHYSICOCHEMICAL ANALYSIS

The results of the physical-chemical analysis of the red fruit jam are shown in Table 2.

Table 2. Characterization of gourmet red fruit jam with ginger.

Parameters	Results
% Soluble Solids (°BRIX)	50
Humidity (%)	40.60
pH	3.39
Ashes (%)	0.24
Aw	0.89

All determinations were made in duplicates. Results were expressed as average.

The minimum total soluble solids content, recommended by law, for extra jam (% w/w) must be 62 % and 65 %. In the formulation of gourmet jam, it was 50º Brix. A similar value was found by Jorge et al. (2013), which was 49.90% for chili jam with pepper, destined for the "gourmet" market.

In the manufacture of red fruit jam, sucrose (in the proportion of 35 %) was used, which is an acidic environment, by the addition of lemon, undergoes a hydrolysis process, being partially broken down into glucose and fructose (inversion), this helps to avoid the crystallization that can occur during storage (TORREZAN, 1998). However, when a final concentration above 65 % of total soluble solids is made, it is necessary to replace part of the sucrose to avoid crystallization, using corn glucose or inverted sugar. To increase soluble solids, it will be necessary to increase the proportion of sucrose, without raising the sweetness attribute too much, which de-characterizes the product.

The pH value was 3.39, which means regular acidity for the gelation to occur; adequate consistency of the jam, without the addition of acidulants. To obtain better gelation, the final pH must be between 3.0 to 3.2, with the optimum acidity value. For most fruits, this pH is not reached in the fruit, pectin, and sugar system, requiring acidification, preferably using organic acids, natural constituents of fruits, such as citrus. However, the pH slightly above the recommended did not affect the final quality of the product. This formulation obtained good sensory acceptance.

Other authors have also found pH values different from this optimal value. Caetano et al. (2011) obtained pH ranging from 3.42 to 3.48 in acerola cherry jam, and Lago et al. (2006) found a pH of 3.41 in java plum jam.

In the preparation of the jam, the legislation establishes a maximum humidity of 38% (w/w). According to the result of the physical-chemical evaluation (Table 2), this higher value is observed. The presence of sugar increases the osmotic pressure of the medium and, consequently, decreases the water activity of food, also removing the water layer that protects the pectin molecules, enabling the formation of gel. By increasing the content of soluble solids, water activity would decrease, thus obtaining greater stability (TORREZAN, 1998).

3.2 MICROBIOLOGICAL ANALYSIS

The results of the microbiological analysis for molds and yeasts (Incubation at 25 + 1 ºC for 5 days), meeting the standards of RDC Nº 12 (January 2, 2001), the sample was within the standards established by current legislation.

3.3 SENSORY ANALYSIS

In the acceptability test, 50 people were interviewed, 36 % of men and 64 % of women. The frequency with which participants include jam in their diet is shown in Figure 2, which shows regular consumption. The most consumed flavors are grape with 42 %, followed by strawberry with 30 %.

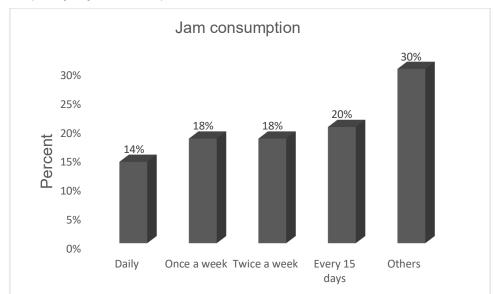



Figure 2. Frequency of jam consumption.

Source: Authors, 2019.

The Acceptability Index (AI) of red fruit jam with ginger was over 70% (Figure 3). According to Dutcosk (2011), the product has good acceptability if the "AI" is equal to or greater than 70 %. Thus, it is observed that the formulation of the jam elaborated in the present work presents values higher than the.

The purchase intention (Figure 4) presented an average between "probably purchase" and "definitely purchase" showing that the product was well accepted by consumers and that it is an alternative to a new product in Brazilian market.

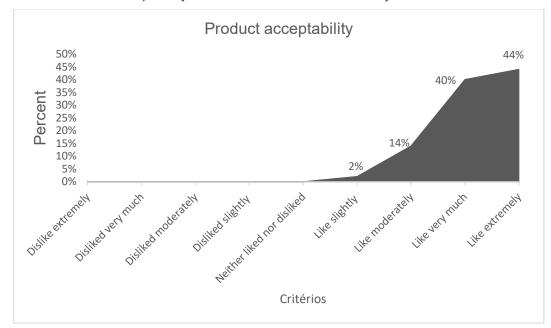



Figure 3. Result of the acceptability test in the formulation of red fruit jam.

Source: Authors, 2019.

Figure 4. Percentage of purchase intention, showing the good acceptance of the jam formulation by the consumer.

Product Purchase Intention

Percent

70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%

0% 2% 4% 30% 64%

Definitely not purchase
Probably not purchase
Generally
Probably purchase
Definitely purchase

Source: Authors, 2019.

The results indicate high acceptability of the product, a positive point, showing that it can be produced on an industrial scale.

4. CONCLUSION

The good results and the obtainment of a jam with distinguished sensory characteristics, aimed at the gourmet market and the fact that the product was well-accepted demonstrates great market potential.

For the physicochemical requirements of pH, soluble solids, and humidity, which presented higher values following the established standards, factors that should be reviewed, perhaps with the elaboration of new formulations, trying not to mischaracterize the jam as a gourmet product, with different characteristics.

The sample met the microbiological standards established by current legislation. The product under study can be produced on an industrial scale, making it an alternative in the clean label product line.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

ANDRADE, R. S. G. de; DINIZ, M. C. T.; NEVES, E. A.; NÓBREGA, J.A. **Determinação e distribuição de ácido ascórbico em três frutos tropicais.** Eclética Química, São Paulo, v.27, n. especial, 2002.

BENZIE, I. F. F.; WACHTEL-GALOR, S. The Amazing and Mighty Ginger. Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. 2. ed. Boca Raton (FL): CRC Press, cap.7, 2011.

BLUM, Rodrigo W., SOUZA, Daiana. **Clean Label –** Inovação e Tecnologia. Jornal da Unisinos, 30/11/2012, available at: http://www.juonline.com.br/index.php/inovacao-e-tecnologia/30.11.2012/clean-label/2cc9

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n° 12, January 2, 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília/DF, 10 jan. 2001.

BRASIL, ANVISA (RDC Nº 272, September 22, 2005).).

COUTO, Andiara Freitas. **Elaboração e aplicação de pré-mix de framboesa (Rubus idaeus L.) estabilizado por xantana e ácido tartárico**. Pelotas, 2012. 111f. il.- Dissertation (Master's) - Graduate Program in Science and Technology Agroindustrial. Faculty of Agronomy Eliseu Maciel. Federal University of Pelotas. Pelotas, 2012.

CAETANO P. K. C, DAIUTO, E. R., VIETES R. L.. **Caracterização físico-tipos de tachos com polpa e suco de acerola.** Rev Energ Agric. 2011; 26(2): 103-18.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos.** 3ª ed. Curitiba: Editora Champagnat, 2011.

ELPO, E. R. S. et al.. *Zingiber officinale roscoe*: **ASPECTOS BOTÂNICOS E ECOLÓGICOS.** Visão Acadêmica, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 27-32, 2004.

GIUSTI, M. M.; JING, P. Natural pigments of berries: functionality and application In**: Berry fruit: value-added products for health promotion**. New York: CRC Press, 2007, p. 105-146.

GOMES, P. **Fruticultura brasileira**. 13.ed. São Paulo: Nobel, 2007. p.342-348.

GOMES, Sophia L. S. **Desenvolvimento e caracterização de geleia mista de maracujá e acerola.** Trabalho de conclusão de curso (graduação – Tecnologia de Alimentos) – CTDR/UFPB; 48 p., 2014.

Instituto Adolfo Lutz. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 2 ed. São Paulo, 1985, 371 p.

JORGE, L.; CIPOLLI, Kátia M. V. A. B.; SILVA, Marta G.; BAGGIO, Sueli R.; TAVARES, Paulo E. R.”. **Desenvolvimento de geleia de pimentão com pimenta, visando à elaboração de produtos destinados ao mercado “gourmet”.** Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL, Fruthotec; CCQA; Faculdade de Engenharia de Alimentos – Unicamp; VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013, 13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo.

LAGO, E. S, GOMES, E., SILVA, R.. **Produção de geleia de jambolão (Syzygium cumini lamarck):** processamento, parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial. Rev. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2006; 26(4): 847-52.

LIMA, Alessandro, et al.. **GENGIBRE (ZINGIBER OFFICINALE ROSCOE), PROPRIEDADES BIOATIVAS E SEU POSSÍVEL EFEITO NO DIABETES TIPO 2:** ESTUDO DE REVISÃO. Rev. Saúde em Foco, Teresina, v. 1, n. 2, art. 1, p. 15-25, ago/dez. 2014; www4.fsanet.com.br/revista/

MARCHI, Priscila Monalisa. **Propagação, aspectos agronômicos e qualidade de frutas de cultivares de framboeseira**. 2015. 123f. Dissertation (Master in Agronomy) - Graduate Program in Agronomy, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS.

ROCHA, Denise Alvarenga, et al. **Análise comparativa de nutrientes funcionais em morangos de diferentes cultivares da região de Lavras – MG.** Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 30, n. 4, p. 1124-1128, dezembro 2008.

SANTOS, C. N., et al. **Poder antioxidante dos pequenos frutos e seus efeitos benéficos para a saúde humana**. In: III Colóquio Nacional da Produção de Pequenas Frutas, 3, 2008, Sever do Vouga. Actas Portuguesas de Horticultura, n.18, p.97104, 2011,

SANTOS, P. R. G, CARDOSO, L. M., BEDETTI, S. F., HAMACECK, F. R., MOREIRA, A. V. B., MARTINO, H. S. D., et al. **Geleia de cagaita (Eugenia dysenterica DC.):** desenvolvimento, caracterização microbiológica, sensorial, química e estudo da estabilidade. Rev. Inst. Adolfo Lutz. São Paulo, 2012; 71(2):281-90.

SILVA, P.A. **Qualidade de morangos cultivados na região de Lavras-MG, armazenados em temperatura ambiente**. 2006. 71 f. Dissertation (Master in Agrochemistry) - Federal University of Lavras, Lavras, 2006.

SILVA NETO, A. G. **Estudo dos efeitos vasculares e Renais causado pelo 6-glicerol isolado do gengibre.** 2012. 103f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012. Folder 12, Porto Velho, 2001.

VIEIRA, N. A. et al.. **Efeito anti-inflamatório do gengibre e possível via de sinalização**. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 35, n. 1, p. 149-162, jan/jun. 2014.

TORREZAN, R. **Manual para a produção de geleias de frutas em escala industrial.** Rio de Janeiro: EMBRAPA - CTAA, 1998. 27 p. (EMBRAPA-CTAA. Documentos, 29).

CAPÍTULO 19

DIAGNÓSTICO RURAL PARTICIPATIVO NA PISCICULTURA MARAJOARA: SITUAÇÃO ATUAL E PERSPECTIVAS.

Fabricio Nilo Lima da Silva
Doutor em Ciência Animal pela Universidade Federal do Pará Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará (IFPA), *Campus* Breves
Endereço: Rua Antônio Fulgêncio da Silva, s/n – Bairro: Parque Universitário – CEP: 68.800-000, Breves, PA, Brasil
E-mail: fabricio.nilo@ifpa.edu.br

Raoani Cruz Mendonça
Doutor em Aquicultura pela Universidade Federal de Santa Catarina Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará (IFPA), *Campus* Breves
Endereço: Rua Antônio Fulgêncio da Silva, s/n – Bairro: Parque Universitário – CEP: 68.800-000, Breves, PA, Brasil
E-mail: raoani.mendonca@ifpa.edu.br

Manoel Luciano Aviz de Quadros
Mestre em Biologia Ambiental pela Universidade Federal do Pará Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará (IFPA), *Campus* Breves
Endereço: Rua Antônio Fulgêncio da Silva, s/n – Bairro: Parque Universitário – CEP: 68.800-000, Breves, PA, Brasil
E-mail: manoel.quadros@ifpa.edu.br

Luã Caldas de Oliveira
Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Pará Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará (IFPA), *Campus* Breves
Endereço: Rua Antônio Fulgêncio da Silva, s/n – Bairro: Parque Universitário – CEP: 68.800-000, Breves, PA, Brasil
E-mail: lua.oliveira@ifpa.edu.br

Lenilton Alex de Araújo Oliveira
Doutor em Agronomia pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte (IFRN), *Campus* Mossoró
Endereço: Rua Raimundo Firmino de Oliveira, 400 - Conjunto Ulrick Graff, Mossoró - RN, CEP: 59.628-330
E-mail: lenilton.alex@ifrn.edu.br

ABSTRACT: The Participatory Rural Diagnosis (PRD) methodologies are efficient instruments of agricultural extension, since they take into account the desires and the reality of rural communities. Thus, the aim of the present study was to present, through PRD, the obstacles of tambaqui (*Colossoma macropomum*) production chain in Curralinho city, Marajó archipelago (state of Pará - Brazil). The data were obtained by the following PRD techniques: semi-structured interviews; problem tree; reality/desire;

Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats (FOFA/SWOT); cross walks; description of flow production and marketing tambaqui. These methodologies are part of the actions practiced in the project "Technology transfer through training and technical assistance for tambaqui farmers in the archipelago of Marajó/PA", from the Federal Institute of Education, Science and Technology of Pará (IFPA) *Campus* Breves. Data collection was carried out in March 2020. The information was analyzed using a simple description of the local fish production chain. The producers indicate as main difficulties: feed, fry, financing, technical assistance, environmental regularization, technological packages, processing and commercialization. In conclusion, the rural extension tools indicated difficulties in acquiring and using minimal inputs for sustainable aquaculture.

KEYWORD: Amazon, PRD, Tambaqui, Social, Extension, Rural Education.

RESUMO: As metodologias do Diagnóstico Rural Participativo (DRP) têm se apresentado como instrumentos eficientes na extensão, uma vez que levam em consideração os anseios e a realidade das comunidades rurais. Assim, o objetivo do presente estudo foi mostrar por meio de um DRP os obstáculos da cadeia produtiva do tambaqui (*Colossoma macropomum*) no município de Curralinho, arquipélago do Marajó (estado do Pará - Brasil). Os dados foram obtidos pelas seguintes técnicas de DRP: entrevistas semiestruturadas; árvore de problemas; realidade/desejo; Fortaleza, Oportunidade, Fraqueza e Ameaça (FOFA/SWOT); caminhadas transversais; descrição do fluxo de produção e comercialização de tambaqui. Essas metodologias fazem parte das ações praticadas no projeto "Transferência de tecnologia através da capacitação e assistência técnica para criadores de tambaqui no arquipélago do Marajó/PA", do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará (IFPA) *Campus* Breves. A coleta de dados ocorreu em março de 2020. As informações foram analisadas utilizando uma descrição simples sobre a cadeia produtiva da piscicultura local. Os produtores apontam como os principais obstáculos: ração, alevinos, financiamento, assistência técnica, regularização ambiental, pacotes tecnológicos, beneficiamento e a comercialização. Em conclusão, as ferramentas de extensão rural utilizadas indicaram dificuldades em aquisição e uso de insumos mínimos para uma aquicultura sustentável.

PALAVRAS-CHAVE: Amazônia, DRP, Tambaqui, Social, Extensão, Educação do Campo.

1. INTRODUCTION

The supply of fish in the world has been fed an increasing slice by aquaculture (FAO, 2018; RAHMAN *et al.,* 2019; AKTER *et al.,* 2020; OLIVEIRA *et al.,* 2020). One of the advantages is that it generates income for the aquaculture farmer, boosts the regional economy and improves the quality of life of the population (GAMBELLI *et al.,* 2019; ARAVINDAKSHAN *et al.,* 2020).

The Amazon has enormous potential for the development of aquaculture, due to the water course, the favorable climate and the geographical condition, among others (SILVA *et al.,* 2018; MEDEIROS *et al.,* 2017; DANTAS *et al.,* 2019; FERREIRA *et al.,* 2020; TROMBETA *et al.,* 2020).

In the state of Pará, fish farming is growing, being an activity developed by small, medium and large aquaculture farmers. An activity also carried out by family farming, extractivists and riverside dwellers (AIZAWA *et al.,* 2014; ZACARDI *et al.,* 2017).

The most produced native fish in the Marajó archipelago (Pará, Brazil) is the tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818), due to the availability of fingerlings throughout the year, to the complete mastery of their artificial reproduction, growth potential, high productivity, rusticity and acceptance of food in captivity (ARAÚJO and GOULDING, 1998). Through preliminary evaluations, we realized that in the municipality of Curralinho (Marajó, Pará) there is a culture of the species in several rural communities. There was also a shortage of literature on the scenario of fish farming in the region.

Thus, the application of diagnostic techniques is extremely important to know the local reality and, consequently, to understand the difficulties of the aquaculture value chain (AMACHREE *et al.,* 2019). In the rural extension, the use of the Participative Rural Diagnosis (PRD) allows an integrated and interdisciplinary document on the reality of the rural environment (GOMES *et al.,* 2000; SILVA *et al.,* 2011; MARINHO and FREITAS, 2015).

Understanding the difficulties in the aquaculture production chain allows an overview of the system, which will help in the development of strategies and promote the integration of the activity (IBEMERE and EZEANO, 2014; POMEROY *et al.,* 2017; SOUSA *et al.,* 2019; SILVA and OLIVEIRA, 2020). Thereby, the objective of this study was to carry out a PRD about the obstacles in the tambaqui production chain in Curralinho, Marajó (Pará - Brazil). These results promote the visibility of local fish

farming, as well as generate information for future research and extension actions to develop the local scenario.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. STUDY AREA

The research was conducted in the municipality of Curralinho, in the Marajó archipelago, state of Pará, Brazil (Figure 1). Marajó is located on the Amazon coast, comprising 16 municipalities, which comprise the micro-regions of Arari (Cachoeira do Arari, Chaves, Muaná, Ponta de Pedras, Salvaterra, Santa Cruz do Arari and Soure), Furos de Breves (Afuá, Anajás, Breves, Curralinho and São Sebastião da Boa Vista) and Portel (Bagre, Gurupá, Melgaço and Portel) (AMARAL *et al.,* 2012). The hydrography of Marajó consists of drainage networks of recent channels, such as: streams, basins, channels, meanders, lakes and streams, among which the Amazon, Pará, Anapu, Jacundá and Anajás rivers stand out, with their numerous tributaries. Curralinho has a territorial extension of 3,620,279 km2 and its population was estimated at 33,893 people for 2018 (IBGE, 2010). The majority of this population is settled in rural communities along the “holes”, small rivers that surround the city and nearby islands, with an emphasis on fishermen, extractivists, aquaculture and family farmers.

Figure 1: A) location of the municipality of Curralinho, Marajó, Pará, Brazil, B) walks in fish farms, C) meeting of local fish farmers and D) extension activities. Source: Adapted from Furtado *et al.* (2007).

Fonte: Os Autores.

2.2. THE EXTENSION PROJECT

The project "Transfer of technology through training and technical assistance for creators of tambaqui, *Colossoma macropomum* in the archipelago of Marajó/PA" was funded by the Dean of Extension and External Relations (PROEX) of the Federal Institute of Education, Science and Technology of the Pará (IFPA), under notice number 03/2019. The project called "Piscicultura Marajoara" was conducted by teachers and students at IFPA *Campus* Breves. Data collection took place in March 2020.

2.3. PARTICIPATIVE RURAL DIAGNOSIS

The participatory rural diagnosis (PRD) methodological tools were used to collect data. According to Gomes *et al.* (2000), PRD is based on three fundamental pillars: participation, behavior and field techniques. Based on this, the PRD techniques used were:

- *Semi-structured interview:* Interviews play a very important role in DRP. It is an interview that is guided by key questions previously determined (PEREIRA *et al.,*

2009). This tool facilitates the creation of an open dialogue environment and allows the interviewee to express themselves freely, without the limitations created by a questionnaire (SOUSA *et al.,* 2019). The semi-structured interview can be conducted with key people or with groups (VERDEJO, 2006).

- *Problem Tree*: This is a methodology used to deepen the understanding of a specific problem identified during discussions and diagnostic activities carried out previously with a certain group (SILVA *et al.,* 2013). Thus, a particular problem identified as a key is chosen and the causes and effects arising from that problem are discussed. The awareness of cause and effect relationships allows for a more adequate planning to solve the problems of the group involved in the intervention (KUMMER, 2007).

- *Reality/Desire*: It is a methodology used to guide the planning process in order to deepen the aspects that interfere in the lives of the people in the group involved in the intervention, whether positive or negative (SILVA *et al.,* 2013). Based on the characterization of reality, the group's desire is discussed, that is, where it is intended to reach, with respect to a certain aspect of the life/dynamics of this group. Thus, it starts with the details of the process, that is, actions, assignments of responsibilities, deadlines and resources necessary for the group's desire to materialize (MARINHO and FREITAS, 2015).

- *FOFA / SWOT*: Diagnostic methodology and assessment of socio-environmental and productive processes related to a specific social group, organization and institution. From this methodology it is possible to identify the Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats (SWOT) that interfere in the dynamics of the group involved in the diagnosis / intervention process. From the debates, it is possible to evaluate and plan strategies that enhance the actions and objectives and goals determined by that group, the focus of the intervention (MARINHO and FREITAS, 2015).

- *Production and commercialization flow*: Diagrams make it possible to analyze in an accessible way all complex and interrelated aspect. Cause-effect relationships can be visualized, as well as the intensity and importance of institutional, commercial or production relationships (trade and production flowcharts) (VERDEJO, 2006; SILVA *et al.,* 2011).

- *Cross walks*: Walking technique that aims to explore the spatial characteristics of the study area (SILVA *et al.,* 2017). Systematic walks were taken

with fish farmers, observing and asking about different areas, local technologies, introduced technologies, history and tradition of the activity. The meanings given to places considered important by them were also raised. It is a record of people's perception of the place (SILVA *et al.,* 2013; SANTOS *et al.,* 2014).

2.4. ETHICAL CONSIDERATIONS

This work is qualitative and was approved by the Research Ethics Committee of the Institute of Health Sciences (CEP) of the Federal University of Pará (UFPA), registration number 2.576.907. The participants' identities were kept confidential, guaranteeing their anonymity and confidentiality of the information.

2.5. DATA ANALYSIS

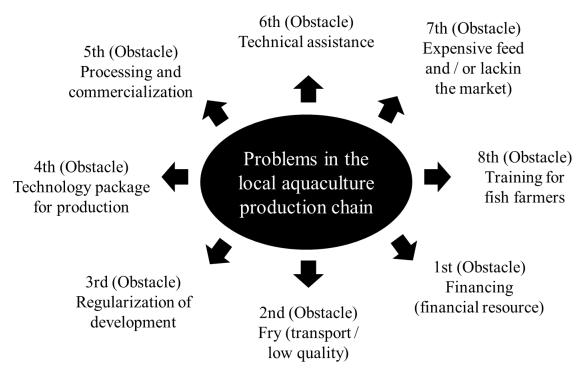
From the techniques used in the PRD it was possible to collect information and trace the obstacles faced and solutions found. The collected data were analyzed using descriptive statistics (OLADEJO, 2010).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

The DRP was conducted with a group of 13 fish farmers, from the communities of Boa Esperança (8 %), Cafezal (8 %), Ilha das Araras (23 %), Perpétuo Socorro (8 %), Piriá Miri (8 %), Rio Açú (15 %), Santa Izabel (15 %) and groups of people from the city of Curralinho (15 %).

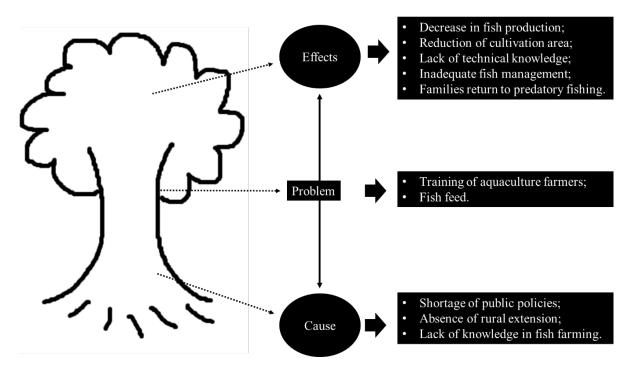
Through semi-structured interviews, restrictions were detected in the production chain (Figure 2).

Figure 2: Semi-structured interviews held in Curralinho, Marajó archipelago, Pará, Brazil.

Fonte: Os Autores.

The lack of technical assistance, food for fish, training of producers and financing in fish farming were the most common problems reported by aquaculture farmers (100 %). They report that local fish farming still presents significant obstacles in some of its links. These difficulties have different effects depending on the size of the fish farmer, with family farmers being more affected. This result is similar to that reported by Fazzi-Gomes *et al.* (2016) and Brito *et al.* (2018), who report several difficulties in the fish farming value chain. Fish farming is an important activity in the Amazon region, for subsistence in addition to generating income for local families, so it is important to understand aspects of the value chain (AIZAWA *et al.,* 2014; ZACARDI *et al.,* 2017; SOUSA *et al.,* 2019; TROMBETA *et al.,* 2020).

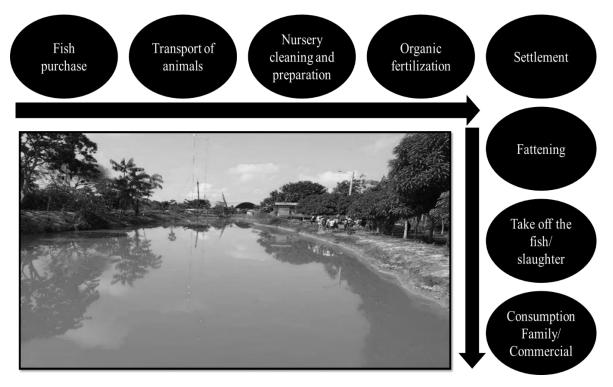
The problem tree showed that the chain does not yet have a sector of inputs and rural extension services for local fish farming (Figure 3).

Figure 3: Problem tree in Curralinho, Marajó archipelago, Pará, Brazil.

Fonte: Os Autores.

The producers reported that they never received training courses in the area of aquaculture. The transfer of knowledge through training aims at the growth of the activity, in order to generate income and make the properties viable (KATO *et al.,* 2017). For these fish farmers studied, almost all the feed used comes from other municipalities in Pará (Marituba, Santa Izabel do Pará and Castanhal), in view of the lack of commercial factories in the region. This factor ends up raising production costs, since the feed item represents about 70 % of the total costs involved in the cultivation of tambaqui (SILVA, 2019). Large producers have minimized these effects by purchasing feed directly from factories located in neighboring states. Another way to reduce producer expenses with food would be the use of alternative foods, complementary to feed (BICUDO *et al.,* 2018; MMANDA *et al.,* 2020), which has already been occurring.

With regard to young forms, the chain does not yet have a fish breeding farm. Through the production flow, the producers also purchase from other municipalities in Pará, such as Castanhal, Igarapé-Açu and Peixe-Boi (Figure 4).

Figure 4: Production flow in Curralinho, Marajó archipelago, Pará, Brazil.

Fonte: Os Autores.

The amount purchased by the producer ranged from 1 to 3 thousand, purchased from one to three times a year. Regarding the price, it varied according to the size (cm) of the animal, ranging from R$ 70.00 to R$ 300.00 per thousand. The supply of fingerlings from regions close to the cultivation projects can decrease the costs of acquiring them and reduce losses due to mortality. The ease in acquiring fingerlings can contribute to the advancement of production and new producers in Pará (BRITO *et al.,* 2017).

The reality and desire technique highlighted that the credit and technical assistance sectors also have important bottlenecks in Curralinho (Table 1).

The documentary requirements regarding the environmental licensing of fish farms have been the main obstacle. Several specific lines of credit for aquaculture have been launched by the federal government, but these barriers have prevented the release of funds by banks. Only for family aquaculture, seven credit lines were created within the portfolio of the National Program for Strengthening Family Agriculture (PRONAF). The lack of technical assistance by public agencies of rural extension has also been a significant bottleneck. This obstacle hinders not only technical assistance itself, but also the performance of other institutions linked to sectors such as research, environmental management and credit, since generally the rural extension service has

an intermediation function in aquaculture. The result is analogous to that described by De-Carvalho *et al.* (2013), Brito *et al.* (2018) and Sousa *et al.* (2019), making it difficult to use the minimum inputs necessary for sustainable activity.

Table 1: Reality and desire realized in Curralinho, Marajó archipelago, Pará, Brazil.

Desires	Realities
River transport to transport production;	Aquaculture farmers do not have a vessel to transport production;
Rural extension, information and training courses;	Rural extension is not carried out in all communities. Scarce information. They legitimate, however, they do not guide;
Better remuneration and reduction of operating costs;	High input costs (fry, feed, etc.). Low price;
Garbage collection in rural areas;	Inadequate disposal;
Credit and valorization of work in the field;	Lack of financial support and public institutions;

The environmental licensing process is also an important bottleneck observed in this scenario. It was reported as bureaucratic and with high overhead involved. Thus, the lack of environmental regularization makes access to credit impossible, hinders commercialization and access to public policies. In addition, few technological packages are aimed at native species under local conditions, which results in lower zootechnical performance of crops and little diversification in relation to the cultivation of new species. The absence of public fish warehouses in operation makes it difficult for small aquaculture farmers to comply with the sanitary legislation for the slaughter of fish and, thus, hinders the valorization of fish through processing.

Through the FOFA / SWOT matrix, we perceive the lack of social organizations in aquaculture (associations, cooperatives, among others), which consolidate the volumes of the producers and carry out their commercialization (Table 2). In the present study, through the marketing flow technique, the tambaqui trade occurs throughout the entire year on the properties for the final consumer or for middlemen (Figure 5). In Curralinho, there is a greater difficulty for small producers in accessing the sales channels of local supermarkets and neighboring municipalities. There are producers who end up selling their fish exclusively during Holy Week, as they find it more profitable. However, it is undeniable the increase in the frequency of tambaqui from fish farming at fairs and markets in the city.

Table 2: Strengths, Opportunity, Weakness and Threat (FOFA / SWOT) held in Curralinho, Marajó archipelago, Pará, Brazil.

Indoor environment	**Outdoor environment**
Strengths	Opportunities
Family participation	Partnerships (producers and institutions)
Union and Self-Esteem	Training of aquaculture farmers
Farmers' Association and Cooperatives	Public policies for activity
Electricity	Marketing of fish
Weaknesses	Threats
Transportation (boat)	Investment in fish farming
Fish diseases	Political dispute
Poor education of producers	Input availability

Figure 5: Sales flow carried out in Curralinho, Marajó archipelago, Pará, Brazil.

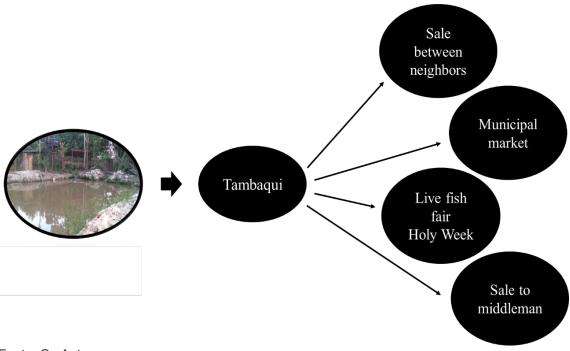
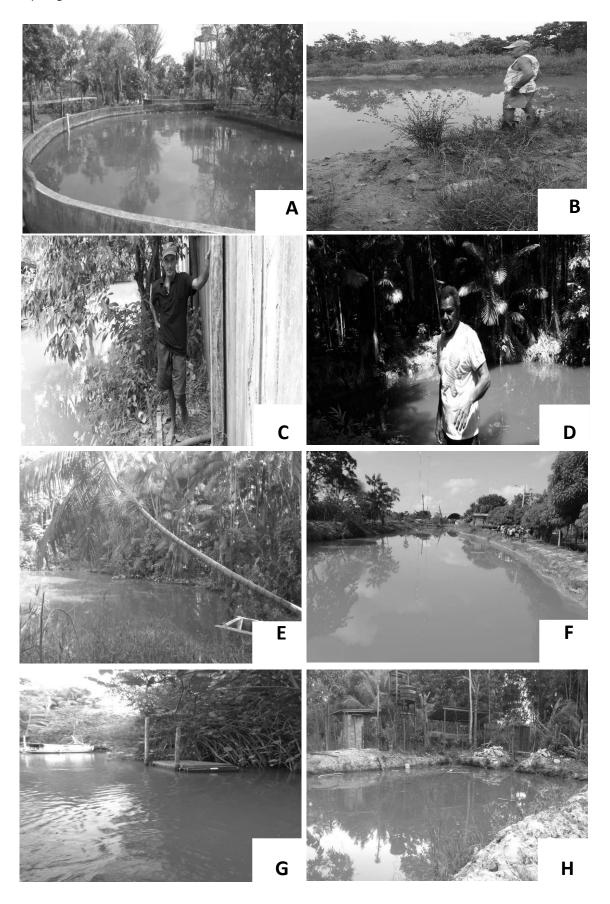
Fonte: Os Autores.

Therefore, social organization in aquaculture can be a viable alternative for purchasing inputs at more accessible prices to producers (CARDOSO *et al.,* 2012; VARGAS-HERNÁNDEZ *et al.,* 2020). Through these organizations, production expenses are reduced and there is a better financial return on the activity. In this study, producers reported having great difficulties in acquiring new investments for the production of tambaqui. Through the transversal walk, Figure 6 shows some fish farms in the municipality of Curralinho, Pará, Braz.

Figure 6: Cross walks carried out at fish farms (A, B, C, D, E, F, G and H) in Curralinho, Marajó archipelago, Pará, Brazil.

4. CONCLUSION

The creation of tambaqui in Curralinho is an important activity for local families. However, the activity is in decline due to several problems that lead producers to abandon the activity, such as the lack of technical assistance, obtaining fry and access to finance. This makes it difficult to use the minimum inputs needed for sustainable aquaculture. Thus, to leverage this activity, effective public policies are needed, which solve the problems raised in this work, in addition to devising strategies that allow access to credit for producers. Fish farming is a viable alternative to strengthen the economy in Marajó, generate and distribute income, as long as the bottlenecks in professionalizing the activity are resolved.

ACKNOWLEDGMENT

To the Dean of Extension (PROEX) of the Federal Institute of Education, Science and Technology of Pará (IFPA), for funding the research (Notice no. 03/2019). To the Municipality of Curralinho, for structural support. To the students (Fernanda Praia Costa, Aracy Sá Pereira, Marlon Alves da Silva, Karina Castro Oliveira, João Erlandrice Corrêa Machado, Walquiria Nogueira da Silva, Maria Aparecida Trindade Castro and Fernanda Reis Silva), involved in the project.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have no conflict of interest.

REFERENCES

AIZAWA, N.; MASUDA, M.; ITO, L. S. Current situation of freshwater aquaculture in the lower Amazon River and the potentiality of development. **Tropics**, 23 (3) 127-134, 2014. https://doi.org/10.3759/tropics.23.127

AKTER, S.; ALI, M.; MONDOL, M. Management practices in the beel aquaculture system at Rajshahi, northwest Bangladesh. **Journal of Bio-Science**, 28, 43-50, 2020. https://doi.org/10.3329/jbs.v28i0.44709

AMACHREE, D.; JAMABO, N.; JOSEPH, D. E. Socio-economic characteristics of small-scale catfish farming enterprise in Obio/Akpor Local Government Area, Rivers State, Nigeria. **International Journal of Fisheries and Aquaculture**, 11(3), 62-7, 2019. https://doi.org/10.5897/IJFA2018.0695

AMARAL, D. D.; MANTELLI, L. R.; ROSSETTI, D. F. Palaeoenvironmental control on modern forest composition of southwestern Marajo Island, Eastern Amazonia. **Water and Environment Journal**, 26: 70-84, 2012. https://doi.org/10.1111/j.1747-6593.2011.00265.x

ARAÚJO-LIMA, C. A.; GOULDING, M. **Os frutos o tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia**. Sociedade Civil Mamirauá. Brasilia-CNPQ, Tefé, Amazonas; 1998.

ARAVINDAKSHAN, S.; KRUPNIK, T. J.; GROOT, J. C. J.; SPEELMAN, E. N.; AMJATH-BABU, T. S.; TITTONELL, P. Multi-level socioecological drivers of agrarian change: Longitudinal evidence from mixed rice-livestock-aquaculture farming systems of Bangladesh. **Agricultural Systems**, 177, 102695, 2020. https://doi.org/10.1016/j.agsy.2019.102695

BICUDO, Á. J. A.; ARAUJO, T. A. T.; BRAGA, L. G. T.; TONINI, W. C. T.; HISANO, H. Apparent digestibility of conventional and alternative feedstuffs by hybrid tambacu juveniles. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 90(1), 471-478, 2018. https://doi.org/10.1590/0001-3765201720150509

BRITO, T. P.; SANTOS, A. T. S.; QUINTAIROS, R. R. D.; COSTA, L. C. O. Aspectos tecnológicos da piscicultura do município de Capitão Poço, Pará, Brasil. **Biota Amazônia**, 7(1), 17-25, 2017. http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v7n1p17-25
BRITO, T. P.; SANTOS, A. T. S.; QUINTAIROS, R. R. D.; TORRES, M. F. Aspectos socioeconômicos dos aquicultores do município de Capitão Poço, Pará, Brasil. **Ambiência**, 14(1), 09-25, 2018. https://doi.org/10.5935/ambiencia.2018.02.01

CARDOSO, R. S.; LANA, A. M. Q.; TEIXEIRA, E. A.; LUZ, R. K.; FARIA, P. M. C. Caracterização socioeconômica da aquicultura ornamental na região da zona da mata mineira. **Boletim do Instituto de Pesca**, 38(1): 89-96, 2012. Disponível em: file:///C:/Users/lyko_/Downloads/38_1_89-96.pdf. Acesso em: 06/04/2020.

DANTAS, D. P.; FLICKINGER, D. L.; COSTA, G. A.; BATLOUNI, S. R.; MORAES-VALENTI, P.; VALENTI, W. C. Technical feasibility of integrating Amazon river prawn culture during the first phase of tambaqui grow-out in stagnant ponds, using nutrient-rich water. **Aquaculture**, 734611, 2019. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734611

DE-CARVALHO, H. R. L.; SOUZA, R. A. L.; CINTRA, I. H. A. A aquicultura na microrregião do Guamá, Estado do Pará, Amazônia Oriental, Brasil. **Revista Ciências Agrárias**, 56,1-6, 2013. http://dx.doi.org/10.4322/rca.2013.009

FAO -The State of World Fisheries and Aquaculture. **Meeting the sustainable development goals.** Rome, 227pp, 2018. Disponível em: http://www.fao.org/3/i9540en/I9540EN.pdf Acesso em: 28outubro 2018.

FAZZI-GOMES, P. F.; OLIVEIRA, N. J. G.; GUERREIRO, S. L. M.; BARROS, K. D. N.; MELO, N. F. A. C.; HAMOY, I. G.; PALHETA, G. D. A. Perfil da piscicultura na microrregião Bragantina, Nordeste do Pará, Brasil. **Boletim Técnico Cientifico do Cepnor**, 16(1), 37-40, 2016. http://dx.doi.org/10.32519/tjfas.v16i1.2136

FERREIRA, G.; MARCOVITCH, J.; VAL, A. A systematic review of the production chain of the *Arapaima gigas*, the giant fish of the Amazon. **Management of Environmental Quality: An International Journal**, 2020. https://doi.org/10.1108 / MEQ-11-2019-0238

FURTADO, A. M. M.; FRANÇA, C. F.; PIMENTEL, M. A. S. **Relações relevo-solo-vegetação da ilha de Marajó-PA**. 2007. Disponível em: http://www.geomorfologia.ufv.br/simposio/simposio/trabalhos/trabalhos_completos/eixo12/003.pdf. Acesso em: 06/04/2020.

GAMBELLI, D.; VAIRO, D.; SOLFANELLI, F.; ZANOLI, R. Economic performance of organic aquaculture: A systematic review. **Marine Policy**, 108, 103542, 2019. https://doi.org/10.1016/j.marpol.2019.103542

GOMES, M. A. O; SOUZA, A. V. A.; CARVALHO, R. S. Diagnóstico Rápido Participativo (DRP) como mitigador de impactos socio-econômicos em empreendimentos agropecuários. **Informe Agropecuário: Agropecuária e Ambiente**, 21(202), 110-119, 2000. Disponível em: https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=496044&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22GOMES,%20A.%20F.%22&qFacets=autoria:%22GOMES,%20A.%20F.%22&sort=&p aginacao=t&paginaAtual=1. Acesso em: 06/04/2020.

IBEMERE, I. F.; EZEANO, C. I. Status of fish farming in Rivers State, Nigeria. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, 9(5):321-329, 2014. https://doi.org/10.3923 / jfas.2014.321.329

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Demográfico 2010**. Resultados gerais da amostra. Rio de Janeiro: IBGE, 2012. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/93/cd_2010_caracteristicas_populacao_domic ilios.pdf. Acesso em: 06/04/2020.

KATO, H. C. A.; EVANGELISTA, D. K. R.; SOUSA, D. N.; MATAVELI, M. Transferência de tecnologia em piscicultura de água doce: a experiência do projeto "Peixe Mais" no estado do Tocantins. **Em Extensão**, 16(2), 129-146, 2017. https://doi.org/10.14393/REE_v16n22017_art06

KUMMER, L. **Metodologia Participativa no meio rural: uma visão interdisciplinar, conceitos, ferramentas e vivências**. GTZ, Salvador – 2007. 155p. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/1404515/mod_resource/content/0/metodologia%20particip ativa%20no%20meio%20rural%20%281%29.pdf. Acesso em: 10/04/2020.

MARINHO, C. M; FREITAS, H. R. Utilização de Metodologias Participativas nos processos de Assistência Técnica e Extensão Rural (ATER): Fundamentos teórico-práticos. **Revista de**

Extensão da UNIVASF, 3(2), 2015. Disponível em: file:///C:/Users/Iyko_/Downloads/764-Texto%20do%20artigo-2609-1-10-20191017%20(4).pdf. Acesso em: 10/04/2020.

MEDEIROS, M.; AUBIN, J.; CAMARGO A. Life cycle assessment of fish and prawn production: Comparison of monoculture and polyculture freshwater systems in Brazil. **Journal od of Cleaner Production**, 156, 528-537, 2017. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.04.059
MMANDA, F. P.; MULOKOZI, D. P.; LINDBERG, J. E.; HALDÉN, A. N.; MTOLERA, M.; KITULA, R.; LUNDH, T. Fish farming in Tanzania: the availability and nutritive value of local feed ingredients. **Journal of Applied Aquaculture**, 1-20, 2020. https://doi.org/10.1080/10454438.2019.1708836

OLADEJO, A. J. Economic analysis of small-scale catfish farming in Ido Local Government Area of Oyo State, Nigeria. **Agricultural Journal**, 5(6): 318-321, 2010. https://doi.org/10.3923/aj.2010.318.321

OLIVEIRA, E. C.; SANTOS, D. C.; PEREIRA, E. C.; SILVA, J. C.; SILVA, L. V. F. Treinamento em reprodução de peixes: uma troca de experiências com piscicultores. **Brazilian Journal of Development**, 6(3), 11597-11607, 2020. https://doi.org/10.34117/bjdv6n3-138

PEREIRA, M. N.; CAUDURO, A. V.; FREITAS, C. A.; NICOLA, M. P.; MEDRONHA, M. A.; SBROGLIO, M. L.; SPANENBERG, M.; KRAHENHOFER, P. H. **Métodos e meios de comunicação e extensão rural (glossário).** 2009. Disponível em: http://www.emater.tche.br/site/arquivos_pdf/teses/METODOSDEEXTENSAOGLOSSARIO.pdf. Acesso em: 10/04/2020.

POMEROY, R.; NAVY, H.; FERRER, A. J.; Purnomo, A.H. Linkages and Trust in the Value Chain for Small-scale Aquaculture in Asia. **Journal of the World Aquaculture Society**, 48(4), 542-554, 2017. https://doi.org/10.1111/jwas.12407

RAHMAN, M. T.; NIELSEN, R.; KHAN, M. A.; ANKAMAH-YEBOAH, I. Impact of management practices and managerial ability on the financialperformance of aquaculture farms in Bangladesh. **Aquaculture Economics & Management**, 2019. http://dx.doi.org/10.1080/13657305.2019.1647578

SANTOS, I. A. F.; SIEBER, S. S.; FALCON, D. R. Piscicultura de base familiar como estratégia para o desenvolvimento rural: experiências no estado de Pernambuco. **Revista Extensão Rural**, 21(1), 2014. http://dx.doi.org/10.5902/231817968620

SILVA, A. P.; RODRIGUES, A. P. O.; SOUSA, D. N.; MACIEL, P. O.; PEDROZA FILHO, M. X.; EICHEMBERGER, M.; FLORES, R. M. V. Diagnóstico participativo da piscicultura familiar na região de Divinópolis/TO: Uma abordagem diferenciada para ações de pesquisa e desenvolvimento. Embrapa Pesca e Aquicultura. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, 2, p. 91, 2019. Disponível em: https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/982655/1/bpd2.pdf. Acesso em: 10/04/2020.

SILVA, F. N. L. **Tortas e óleos de buriti (*Mauritia flexuosa*), coco (*Cocos nucifera*) e dendê (*Elaeis guineenses*) em dietas para tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818).** Tese (Doutorado em Ciência Animal), Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, Pará, p. 129, 2019.

SILVA, F. N. L.; BARBOSA, M. S.; MACEDO, A. R. G.; SAMPAIO, L. S. O.; OLIVEIRA, I. V. Diagnóstico Rápido Participativo: Um estudo de Caso na Piscicultura Familiar no Município de Igarapé Açú, PA, **Cadernos de Agroecologia**, 6(2), 2011. Disponível em: http://revistas.aba- agroecologia.org.br/index.php/cad/article/view/12004. Acesso em: 10/04/2020.

SILVA, F. N. L., OLIVEIRA, L. C. Reflections on teaching aquaculture in the Marajó archipelago, Eastern Amazon. **Revista Brasileira de Educação do Campo**, 5, e7893, 2020. http://dx.doi.org/10.20873/uft.rbec.e7893

SILVA, L. J. S.; PINHEIRO, J. O. C.; CRESCÊNCIO, R.; CARNEIRO, E. F.; PEREIRA, B. P.; BRITO, V. F. S. Tecnologia e desenvolvimento rural: aspectos do cultivo de tambaqui no município de Rio Preto da Eva, AM. **Revista Terceira Margem Amazônia**, 3, 10, 2018. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/185694/1/DOSSIE-GOVERNANCA- 24.09.18-170-196.pdf. Acesso em: 10/04/2020.

SOUSA, R. G. C.; ASSIS, J. L.; COZER, M. V. G.; OLIVEIRA, C. M. Socio-Economic profile of fish farming in Presidente Médici (Rondônia - Brazil). **Biota Amazônia**, 9(1), 51-55, 2019. http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v9n1p51-55

TROMBETA, T. D.; SILVA, W.; ZARZAR, C. A.; REIS, B. P. Caracterização produtiva e análise do ambiente institucional da piscicultura em Monte Alegre-Pará. **Brazilian Journal of Development**, 6(2), 5473-5497, 2020. https://doi.org/10.34117/bjdv6n2-010

VARGAS-HERNÁNDEZ, J. G. G.; SALAZAR-ECHEAGARAY, J. E.; SALAZAR-ECHEAGARAY, T. I. A Study of the Reorganization Eco-Systemic in a Cooperative Society of Fishing Production. **International Journal of Social Ecology and Sustainable Development**, 11(2), 51-66, 2020. https://doi.org/10.4018/IJSESD.2020040104

VERDEJO, M. E. **Diagnóstico Rural Participativo: Um guia prático**. Brasília: Ministério do Desenvolvimento Agrário/Secretaria de Agricultura Familiar, 2006. Disponível em:http://www.projetovidanocampo.com.br/livros/Diagnostico_rural_participativo.pdf. Acesso em: 06/04/2020.

ZACARDI, D. M.; LIMA, M. A. S.; NASCIMENTO, M. M.; ZANETTI, C. R. M. Caracterização socioeconômica e produtiva da aquicultura desenvolvida em Santarém, Pará. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, 5(3): 102-112, 2017. https://doi.org/10.2312/Actafish.2017.5.3.102-112

CAPÍTULO 20

EXTRAÇÃO QUÍMICA DE SEMENTES DE DUAS VARIEDADES DA MANGABA.

Musa Do Carmo Vieira
Pós Doutoranda, Escola de Agronomia,
Istituiçao: Universidade Federal de Goiás. Téc. Ad. Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí - GO. Endereço: Rodovia Geraldo Silva Nascimento Km 2,5, Urutaí-GO, 75790-000.
E-mail: mcvmuza@gmail.com; muza.vieira@ifgoiano.edu.br;

Caio Cesar de Oliveira Pereira
Mestrando PPCRENAC Istituição: Instituto Federal Goiano -Campus Urutaí-GO. Endereço: Rodovia Geraldo Silva Nascimento Km 2,5, Urutaí-GO, 75790-000.
E-mail: caiocesar.op@hotmail.com;

Lucas Ferreira Santos
Discente da Escola de Agronomia, Istituição: Universidade Federal de Goiás. Endereço: Rodovia Goiânia-Nova Veneza, Km 0 s/n Campus-Samambaia, Goiânia-GO, 74690- 900. E-mail: lucas.k2000@hotmail.com;

Jaqueline Lima da Conceição Souza
Doutoranda da Escola de Agronomia, Istituição: Universidade Federal de Goiás. Endereço: Rodovia Goiânia-Nova Veneza, Km 0 s/n Campus - Samambaia, Goiânia - GO, 74690- 900.
E-mail:jaquelinelima.745@gmail.com;

Janaina Borges de Zevedo Fraca
Dra. Engenheira Agrônoma, Instituição: Faculdade Estácio de Sá.
E-mail:janainaborgesdeazevedofranca@gmai.com

Érica Fernandes Leão Araújo
Profa. Dra. Instituto Federal Goiano-Campus Urutaí - GO. Endereço: Rodovia Geraldo Silva Nascimento Km 2,5, Urutaí-GO, 75790-000
E-mail: erica.leao@ifgoiano.edu.br;

Eli Regina Barboza de Souza
Profa. Dra. Escola de Agronomia Instituição: Universidade Federal de Goiás. Endereço: Rodovia Goiânia-Nova Veneza, Km 0 s/n Campus - Samambaia, Goiânia - GO, 74690- 900.
E-mail: eliregina1@gmail.com.

RESUMO: A mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma frutífera genuinamente brasileira. O fruto pode ser consumido *in natura* ou processado como geleias, doces, sorvetes, sucos, entre outros. O objetivo do estudo foi determinar a concentração de hidróxido de amônio na despolpa em sementes de mangaba de diferentes variedades

cultivadas no Cerrado e sua influência na emergência e desenvolvimento inicial das mudas. Os tratamentos foram constituídos por frutos da variedade botânica de *Hancornia speciosa* Gomes, *gardneri* e *cuyabensis*. Os frutos foram macerados e colocados em hidróxido de amônio a concentração de 1,5; 3,0 e 5,0 % por 48 horas, para retirada do excesso de polpa. A semeadura foi realizada em bandejas de isopor com substrato Bioplant. Foram avaliados o índice de emergência e desenvolvimento em dias após a semeadura, a qual foi coletado dados de altura; número de par de folhas; e diâmetro de caule. Os dados obtidos foram analisados pela estatística descritiva com apresentação dos índices dos valores. o NH4OH na proporção de 1,5 a 5,0 % pode ser utilizado para a otimização da despolpa de mangabeira das variedades *gardneri* e *cuyabensis* com vias para a produção de mudas.

PALAVRAS-CHAVE: Frutíferas nativas; hidróxido de amônio, emergência

ABSTRACT: The mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) is a genuinely Brazilian fruit. The fruit can be consumed fresh or processed as jellies, sweets, ice cream, juices, among others. The objective of the study was to determine the concentration of ammonium hydroxide in the pulping of mangaba seeds of different varieties grown in the Cerrado and its influence on the emergence and initial development of seedlings. The treatments consisted of fruits of the botanical variety of *Hancornia speciosa* Gomes, *gardneri* and *cuyabensis*. The fruits were macerated and placed in ammonium hydroxide at a concentration of 1.5; 3.0 and 5.0 % for 48 hours, to remove excess pulp. Sowing was carried out in Styrofoam trays with Bioplant substrate. The emergence and development index were evaluated in days after sowing, which was collected height data; leaf pair number; and stem diameter. The data obtained were analyzed by descriptive statistics with presentation of the indexes of the values. NH4OH in the proportion of 1.5 to 5.0 % can be used to optimize the pulping of mangabeira varieties of gardneri and cuyabensis with pathways for the production of seedlings.

KEYWORDS: Native fruits; ammonium hydroxide, emergency

1. INTRODUÇÃO

A mangaba *(Hancornia speciosa* Gomes) é uma frutífera genuinamente brasileira, típica das restingas do litoral nordestino e dos cerrados do Centro-Oeste. Em razão do sabor e aroma, esta é uma das mais populares frutas do Nordeste do Brasil (VIEIRA NETO, 2003). Na região do Cerrado é bastante consumida pelas populações locais (AGOSTINI-COSTA *et al*., 2006).

A mangabeira nativa dos tabuleiros costeiros, baixada litorânea e cerrados do Brasil, constitui-se em uma das mais importantes matérias-primas para a indústria de sucos e sorvetes do Nordeste e está entre as dez espécies selecionadas como de altíssima prioridade pelo programa Plantas do Futuro do CNPq/World Bank/GEF/MMA/Probio, com maior potencial de uso imediato entre as fruteiras nativas da região Nordeste (FERREIRA *et al.,* 2005 citado por LÉDO *et al*., 2007).

A espécie *Hancornia speciosa* Gomes é uma árvore de porte médio, que varia de 2,00 m a 10,00 m de altura e pode chegar até 15,00 m. Constituída de copa irregular, possui também, tronco tortuoso, bastante ramificado e áspero, ramos lisos e avermelhados. Toda a planta exsuda látex. Possui folhas opostas, simples, pecioladas, podendo ser glabras ou pubescentes, brilhantes e coriáceas. Sua inflorescência possui de uma a sete flores perfumadas e de coloração branca (LEDERMAN *et al*., 2000).

Os frutos da mangaba são muito apreciados podendo ser consumido *in natura* ou processado como geleias, doces, sorvetes, sucos, refrescos, picolés, licores, vinho e xarope. Além disso, possui também potencial farmacológico (SOUZA, 2001; SILVA *et al*., 2011).

Em Goiás e Tocantins, Rizzo e Ferreira (1990) verificaram a ocorrência das variedades *gardneri*, *pubescens e speciosa*. A variedade típica *H. speciosa* Gomes *speciosa* tem maior ocorrência nas regiões de Goiás próximo a Bahia, e do Tocantins próximas ao Piauí e Maranhão.

A viabilidade das sementes pode ser comprometida por sua recalcitrância. As sementes de mangaba por não serem tolerantes a secagem, devem ser semeadas logo após a sua extração, lavando-as bem, a fim de que não fique nenhum resíduo da polpa, pois ela tem ação inibidora sobre a emergência (ANDERSEN; ANDERSEN, 1988; AGUIAR FILHO *et al*., 1998).

A mangabeira é comumente propagada por via sexuada. Suas sementes devem ser obtidas de frutos maduros, sadios e colhidos de plantas em boas condições de saúde. As formas de extração que não causam danos às sementes também são indicadas, sendo a forma manual a mais utilizada. Dessa forma os frutos são macerados em peneira e as sementes lavadas em água corrente até a retirada total da polpa aderida (BARROS *et al*., 2006; BARROS, 2006; BARROS *et al*., 2010).

A extração de sementes de espécies que possuem mucilagem aderida às sementes, necessitam de várias operações para remoção da polpa, pois, esta pode prejudicar a emergência e desenvolvimento das plântulas, tanto por favorecer o desenvolvimento de microorganismos como por conter substâncias inibidoras de emergência (CARMONA *et al.,* 1994). A maceração em peneira não causa redução no vigor e na viabilidade das sementes como observado por Barros *et al*. (2006), mas possui elevado tempo de execução, podendo levar mais de 30 minutos para extração e processamento de sementes de apenas 1 (um) fruto.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o uso do hidróxido de amônio na despolpa da semente de mangaba de duas variedades cultivadas no Cerrado e sua influência na emergência e desenvolvimento inicial das mudas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em 2018 e 2019, utilizando sementes coletadas de plantas de mangabeira implantadas em 2005 e pertencentes ao banco de germoplasma da Escola de Agronomia, na Universidade Federal de Goiás (Goiânia-GO; 16º35’12’’S; 49º21’14’’W; 730 m).

O clima da região é do tipo Aw (Tropical quente e úmido), com inverno seco (KÖPPEN; GEIGER 1928), apresentando médias anuais de 1.494 mm, com desvio médio de 187.6 mm (CASAROLI *et al*., 2018). O solo da área do experimento foi classificado como Latossolo Vermelho distrófico, de textura média e relevo suavemente ondulado (EMBRAPA, 2013).

Os tratamentos foram constituídos por frutos de matrizes do banco de germoplasma, para as variedades botânicas de *Hancornia speciosa* Gomes, *gardneri*

e *cuyabensis*. As coletas dos dados foram realizadas entre agosto a dezembro 2018 e de janeiro a dezembro de 2019.

Os frutos foram macerados e colocados em hidróxido de amônio nas concentrações de 1,5; 3,0 e 5,0 % por 48 horas, para retirada do excesso de polpa. Para a manipulação do reagente e das sementes na solução de hidróxido de amônio, os manipuladores utilizavam máscaras para proteção. Após esse período as sementes foram passadas em peneira de malha grossa e água corrente e colocadas para secar em papel toalha por seis horas.

As sementes ficaram armazenadas por oito dias em geladeira (8ºC) e posteriormente foi realizada a semeadura em bandejas de isopor de 128 células com substrato Bioplant. As bandejas foram dispostas em casa de vegetação com sombrite de 50 % e irrigação por aspersão realizada duas vezes ao dia.

Foram avaliados: emergência (%) e características do desenvolvimento das plântulas, como altura (H - em cm), número de par de folhas (NPF - em unidades) e diâmetro de caule (DC - em mm).

Os dados obtidos foram analisados pela estatística descritiva.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A emergência das plântulas de mangabeira variou de 0 a 25 % aos 27 DAS (Figura 1). Em estudo com geminação de sementes de mangaba de diferentes áreas Vieira et al. (2015) constatou que os índices variaram para cada local de coleta. Ainda de acordo com estes, as áreas de Serra de Jaraguá e Serra dos Pirineus apresentam-se com 72,1 % e 39,6 %, aos 24,1 e 22,8 dias após a semeadura, respectivamente. No presente estudo observou-se que o maior índice de emergência foi de 19 DAS com amplitude de antecipação para emergência de cinco dias. Fatores da variedade, época de coleta e manejo dos frutos e sementes podem estar envolvidos no processo de emergência da *H. speciosa* var. *gardneri* e *cuyabensis*. Todavia, é interessante abordar que o processo fermentativo otimizado pelo o uso do NH_4OH pode ter sido o fator decisivo para a antecipação da emergência. Outrossim, o uso desse reagente facilita a despolpa dessa frutífera, diminuindo os trabalhos operacionais e a utilização de mão-de-obra no decorrer do processo.

Tabela 1 - Emergência para mudas de diferentes variedades de *H. speciosa* em bandejas de isopor após despolpadas e após imersão dos frutos e sementes em diferentes concentrações de hidróxido de amônio.

Fonte: Os Autores.

Quanto ao fenômeno da emergência, o uso do NH4OH ao facilitar da despolpa, permite a limpeza da semente diminuindo os níveis de polpa agregada a estrutura do tegumento facilitando a germinação e, ou, a emergência da plântula e produção de mudas de qualidade. A polpa do fruto de mangabeira é uma estrutura rica em látex, esse componente pode atuar causando dormência nas sementes (dados não publicados), impedindo sua germinação, caso não seja retirada na sua totalidade, uma vez que segundo Pereira *et al*. (2017) em sua composição (látex) são verificados compostos fenólicos na forma de taninos que atuam na dormência dessas sementes.

Quanto a emergência por variedade, neste estudo os índices variaram para cada porcentagem de hidróxido de amônio utilizado. Quanto a var. *gardneri*, os índices foram de 2,70 a 7,56 % quando se utilizou a dosagem de 0,00 a 5,0 % de NH4OH. No tratamento 3 para essa variedade não foram registradas emergência de plântulas. Tal fato talvez possa estar relacionado a influência da variedade e dos genótipos estudados.

Já para a var. *cuyabensis*, constatou-se que os índices variaram de 0,00 a 25,00 % para as dosagens do reagente utilizado. Nas condições desse estudo essa variedade foi mais responsiva ao tratamento na proporção de 5 % do NH4O.

A porcentagem de emergência das sementes desta espécie geralmente é baixa, pois as sementes são recalcitrantes e a polpa do fruto possui ação inibitória sobre a emergência da mangaba. Valores de emergência superiores a 60 % a 90 % podem ser encontrados na literatura (LÉDO *et al*., 2007; VIEIRA *et al*., 2015; BASTOS *et al*., 2017; VIEIRA *et al*., 2018). Essas
informações se referem a outras foram de extração das sementes e não o uso de processos fermentativos influenciando na emergência e, ou, germinação de mangaba. Estudos relacionados a adição de reagentes como otimizadores de reações fermentativas como o NH4OH em mangaba são inexistentes.

Tabela 1 - Dados médios para os índices de emergência para mudas de diferentes variedades de *H. speciosa* oriundas de sementes despolpadas após imersão em diferentes concentrações de hidróxido de amônio.

Tratamentos	**NH4OH**	**Variedade**	**DAS**	**%**
T0	água	*gardneri*	27,0	2,7
T1	1,5 %	*gardneri*	27,0	2,2
T2	3,0 %	*gardneri*	27,0	0,0
T3	5,0 %	*gardneri*	27,0	7,6
T0	água	*cuyabensis*	27,0	0,0
T1	1,5 %	*cuyabensis*	27,0	1,0
T2	3,0 %	*cuyabensis*	27,0	12,0
T3	5,0 %	*cuyabensis*	27,0	25,0

Em plantas cultivadas como o maracujá amarelo estudos utilizando cal hidratada para auxiliar na despolpa das sementes, mostraram que a maior porcentagem de emergência foi de 10 % no tratamento de retirada da mucilagem com peneira de nylon acrescida de cal hidratada no tempo de envelhecimento de 72h, assim como, um maior IVG para este mesmo tratamento. Esses autores também obtiveram que não houve emergência nos processos que envolveram fermentação (BARROS *et al*., 2006). Nessa mesma linha raciocínio Oliva *et al*. (2017) concluíram que a remoção da mucilagem de tomate pertencente ao grupo

Saladete cultivar Juliane foi mais eficiente com a utilização de 50g de cal hidratada, proporcionando reduzir o processo de obtenção de sementes de tomate em dois dias e aumentando em 25 % o crescimento de plântulas.

Em estudo para definir a idade ótima do fruto na colheita e avaliar o efeito do pré- armazenamento e fermentação no desempenho agronômico das sementes de *Lagenaria siceraria* oleaginosa Bertin *et al*. (2012) observaram que a melhor viabilidade e as mudas mais vigorosas foram obtidas com sementes de frutos colhidos tardiamente (50 DAA), pré-armazenados por um longo período (60 DAH) e fermentados por mais tempo (10 dias).

Já outra espécie a influência da fermentação na qualidade de sementes de cafeeiro de diferentes genótipos, o genótipo influenciou a taxa de emergência de plântulas de café em diferentes tempos de fermentação. Neste caso, a fermentação influencia positivamente a emergência de plântulas de café (CORREA et al., 2008).

O desenvolvimento das plântulas emergidas (Tabela 2) foram definidas com dois pares de folhas mais cotilédones e com altura média de 6,7 cm; 2,7 de NPF e 0,8 mm de DC aos 67 DAS. O tipo de semente, a espécie e o processo de fermentação, sendo que neste último, o binômio tempo – temperatura podem influenciar o vigor e a emergência de sementes de diferentes espécies (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Segundo os autores supracitados as principais desvantagens do processo de fermentação seriam a pior aparência das sementes; decréscimo no vigor e emergência em alguns casos; longo período requerido pelo processo e risco do início da emergência das sementes durante o período de fermentação.

No trabalho em questão não foram observadas mudanças morfológicas nas sementes no período avaliado. Observou-se também que o desenvolvimento das mudas se apresentou com padrões normais de emergência e desenvolvimento no período de tempo-espaço avaliado.

Tabela 2 - Dados médios para os índices de comprimento (H); número de par de folhas (NPF) e diâmetro de coleto (DC) para mudas de diferentes variedades de *H. speciosa* oriundas de sementes despolpadas após imersão em diferentes concentrações de hidróxido de amônio.

		18 DAS			**67 DAS**		
Var.	**NH4OH**	**H(cm)**	**NPF (Un.)**	**DC (mm)**	**H(cm)**	**NPF (Un.)**	**DC (mm)**
gardneri	(T0) água	7,0	2,0	0,5	7,3	3,0	0,5
gardneri	(T1) 1,5 %	7,0	3,0	0,8	7,5	4,0	0,8
gardneri	(T2) 3,0 %	4,0	2,0	0,9	4,0	2,0	0,9
cuyabensis	(T0) água	5,0	2,0	0,5	5,2	2,0	0,5
cuyabensis	(T1) 1,5 %	7,0	2,0	0,8	8,0	4,0	0,8
cuyabensis	(T2) 3,0 %	5,0	2,0	0,8	7,5	2,0	0,8
cuyabensis	(T3) 5,0 %	5,0	2,0	0,8	7,5	2,0	0,8
Média Geral		**5,7**	**2,1**	**0,7**	**6,7**	**2,7**	**0,7**
Máximo Valor		**7,0**	**3,0**	**0,9**	**8,0**	**4,0**	**0,9**
Mínimo Valor		**4,0**	**2,0**	**0,5**	**4,0**	**2,0**	**0,5**

Fonte: Os Autores.

A altura final aos 67 DAS variou de 4,0 a 8,0 cm (Figura 2 A, B) para a dosagem de 3,0 e 1,5 % respectivamente para a var. *cyabensis*. Quanto a var. *gardneri* esse evento variou de 4,0 a 7,5 cm na dosagem de 3,0 a 1,5 %. Em relação ao número de par de folhas a dosagem com maior valor para as duas variedades foi de 1,5 %, decaindo conforme aumentou-se a dose do reagente. Quanto ao DC houve incremento nas diferentes dosagens e variedades, exceto no DC que mantiveram o mesmo padrão de diâmetro no decorrer do tempo.

Figura 2 - A) Mudas de mangaba com torrão de terra pronta para transplante; B) Muda de mangaba var. *gardneri.* oriundas de sementes despolpadas após imersão em diferentes concentrações de hidróxido de amônio.

A

B

Fonte: Os Autores.

Na produção de mudas de mangabeira Silva *et al*. (2011) estudaram o efeito de diferentes substratos na produção de mudas de mangabeira em tubete, e encontraram altura média entre 5,36 e 9,35 cm aos 160 DAS. Nesse sentido, constata

que as mudas originadas do processo de despolpa com NH_4OH, estão dentro do padrão de mudas aos 67 DAS.

A elaboração da muda é uma etapa importante para a condução de uma cultura. Uma muda defeituosa, debilitada, frágil, compromete todo o progresso da cultura ampliando seu ciclo e, em muitos casos, gerando perdas de produção. A propriedade das sementes alcança um conjunto de características que definem seu valor para a semeadura, de forma que o potencial e a performance das sementes tão somente podem ser detectado, de modo consistente, quando é tida a interação das características genéticas, físicas, fisiológica e o vigor que afetam seu potencial de originar plantas de alta produtividade (MARCOS FILHO, 2005; OLIVA *et al*., 2017).

CONCLUSÕES

O NH_4OH pode ser utilizado para a otimização da despolpa de mangabeira das variedades *gardneri* e *cuyabensis* com vias para a produção de mudas.

REFERÊNCIAS

AGOSTINI-COSTA, T. S.; SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; SANO S. M.; FERREIRA, F. R. O. Espécies de maior relevância para a região centro-oeste. In: COSTA, A. T. S.; SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; SANO S. M.; FERREIRA, F. R. O. **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. cap. 1, p. 12-24.

AGUIAR FILHO, S. P.; BOSCO, J. A. **Mangabeira (*Hancornia speciosa*): domesticação e técnicas de cultivo**. João Pessoa-PB: EMEPA-PB, 1998. 26 p. (Documentos, 24).

ANDERSEN, O.; ANDERSEN, V. U. **As frutas silvestres brasileiras**. 3. ed. Rio de Janeiro: Publicações Globo Rural, 1988. p. 147-150. (Coleção do agricultor).

BARROS, D. I. **Tecnologia de Sementes de Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomez)**. [s.l.] Universidade Federal da Paraíba, 2006.

BARROS, D. I.; BRUNO, R. L. A.; NUNES, H. V.; SILVA, G. C.; PEREIRA, W. E.; MENDONÇA, R. M. N. Métodos de extração de sementes de mangaba visando à qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 25–27, 2006.

BARROS, D. I.; BRUNO, R. L. A.; NUNES, H. V.; MENDONÇA, R. M. N. PEREIRA, W. E. Comportamento fisiológico de sementes de mangaba submetidas à dessecação. **Revista ACTA Tecnológica**, v. 5, n. 1, 2010.

BASTOS, K. X.; DIAS, C. N.; NASCIMENTO, Y. M.; SILVA, M. S; LANGASSNER, S. M.; WESSJOHANN, L. A.; TAVARES, J. F. Identification of phenolic compounds from *Hancornia speciosa* (apocynaceae) leaves by UHPLC Orbitrap-HRMS. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 11, 2017.

BERTIN, Y. K.; JACKY, K. A.; EVIN, K. K.; JEAN-PIERRE, B.Effectoffruit age, pre-storageandseedfermentationdurationsonseedgerminationandseedling vigor in *Lagenaria siceraria*. **Journal of Applied Biosciences** 49: 3339–3351. 2012.

CARMONA, R.; REZENDE, L.P.; PARENTE, T.V. Extração química de sementes de gabiroba (*Campomanesia adamantium* Camb.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.16, n.1, p.31-33, 1994.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000, 588p.

CASAROLI, D.; RODRIGUES, T. R.; MARTINS, A. P. B.; EVANGELISTA, A.W.P.; ALVES JÚNIOR, J. Padrões de Chuva e de Evapotranspiração em Goiânia, GO. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 33, n. 2, 247-256, 2018.

CORREA, A.; COGO, F. D.; COSTA, T. V.; BARRA MANSA, M. C. L.; VEIGA, A. D.; BARBOSA, W. M. A influência da fermentação na qualidade de sementes de genótipos de *Coffea arábica*. **Anais...** I Jornada Científica e VI FIPA do Cefet Bambuí Bambuí/MG – 2008.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Brasília: Embrapa, 2013. 353 p.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. *Klimate der Erde*. Gotha: Verlag Justus Perthes. Wall-map 150cmx200cm, 1928.

LÉDO, A. S.; SILVA JUNIOR, J. F.; BARBOZA, S. B. S. C. **Germinação *in vitro* da mangabeira**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 16 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento/ Embrapa Tabuleiros Costeiros, ISSN 1678-1961; 24), 2007.

LEDERMAN, I. E.; SILVA JÚNIOR, J. F.; BEZERRA, J. E. F.; ESPÍNDOLA, A. C. M. **Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes)**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 35 p.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Fealq, 2005.

OLIVA, F. A.; POCAIA, A. P.; LIMA, B. C.; BALDOTO, P. V.; FERNANDES, D.; CARVALHO, L. O.; MAYCON VIEIRA AMIN, M. V. Extração de sementes de tomate sem fermentação. **Colloquium Agrariae**, vol. 13, n. Especial, Jul-Dez, 2017, p. 82-87. ISSN: 1809-8215. DOI: 10.5747/ca.2017.v13.nesp.000176.

SOUZA, V. A. B. **Perspectivas do melhoramento de espécies nativas do nordeste brasileiro**. In: Congresso brasileiro de melhoramento genético de plantas, 1, 2001, Goiânia. Resumo 25, Embrapa Meio-Norte, Teresina-PI, 2001.

SILVA, E. P.; OLIVEIRA, A. C.; MENDONÇA, V.; SOARES. F. M. Substratos na produção de mudas de mangabeira em tubetes. **Pesq. Agropec. Trop**., Goiânia, v. 41, n. 2, p. 279-285, abr./jun. 2011.

PEREIRA, G. S.; D'ABADIA, P. L.; ALMEIDA, L. M. Fracionamento do Látex de Mangabeira e Análise de Proteínas Totais. Anápolis, GO, **Anais...**IV Congresso de Ensino Pesquisa e Extensão da UEG. 2017.

RIZZO, J. A.; FERREIRA, H. D. *Hancornia* G. no estado de Goiás. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 36, 1985, Curitiba, PR. **Anais...** Brasília: Sociedade Botânica do Brasil, 1990. v.1, p. 363-368.

VIEIRA NETO, R. D. Manejo fitotécnico no cultivo da mangabeira. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 1, 2003, Aracaju, SE. **Anais...** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. CD-ROM.

VIEIRA, M. C.; NAVES, R. V.; SOUZA, E. R.; SILVA, G. D.; BELO, A. P. M.; CAMILO, Y. M. C. Emergência de plântulas de mangabeira provenientes de frutos coletados em diferentes localidades do Estado de Goiás. **Comunicata Scientiae** 6(1): 33-40, 2015.

VIEIRA, M. C.; OLIVIERA, R. M.; FRANÇA, J. B. A.; OLIVEIRA, C. C. P.; SOUZA, E. R. B. In vitro morphogenesis of different mangabeira (*Hancornia speciosa* gomes) varieties from the savanna of the Goiás). **Scientific Electronic Archives**. v. 11, n. 5. 2018.

CAPÍTULO 21

PRODUÇÃO DE BIODIESEL DE ÓLEO DE FRITURA RESIDUAL EM UM MÓDULO DIDÁTICO DE BIODIESEL.

Felipe de Luca Lima Coelho
Graduando em Engenharia Química pela Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará Instituição: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Faculdade de Engenharia de Minas e Meio Ambiente
Endereço: Folha 31, Quadra 07, Lote Especial, s/n. Bairro: Nova Marabá – Marabá-PA, Brasil.
E-mail: felip-de-lucas@hotmail.com

Iara Oliveira Santos
Graduando em Engenharia Química pela Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará Instituição: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Faculdade de Engenharia de Minas e Meio Ambiente
Endereço: Folha 31, Quadra 07, Lote Especial, s/n. Bairro: Nova Marabá – Marabá-PA, Brasil.
E-mail: iaraosantos15@gmail.com

Daniel Campos da Paixão
Graduado em Engenharia Química
Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia.
Endereço: Rua Emídio dos Santos, s/n - Barbalho, Salvador – BA.
E-mail: campos_paixao@hotmail.com

Dyenny Ellen Lima Lhamas
Doutora em Engenharia de Recursos Naturais pela Universidade Federal do Pará
Instituição: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Faculdade de Engenharia de Minas e Meio Ambiente.
Endereço: Folha 31, Quadra 07, Lote Especial, s/n. Bairro: Nova Marabá – Marabá-PA, Brasil.
E-mail: dyenny@unifesspa.edu.br

Gicélia Rodrigues
Doutora em Engenharia Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte Instituição: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Faculdade de Engenharia de Minas e Meio Ambiente.
Endereço: Folha 31, Quadra 07, Lote Especial, s/n. Bairro: Nova Marabá – Marabá-PA, Brasil.
E-mail: gicelia.rodrigues@unifesspa.edu.br

Daiane Farias Pereira Suffredini
Doutora em Engenharia Química pela Universidade Federal da Bahia Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia - Campus Ilhéus.
Endereço: Rodovia Jorge Amado, Km 13, S/N – Vila Cachoeira - Ilhéus-BA.
E-mail: daianefarias@ifba.edu.br

Ana Cláudia Gondim de Medeiros
Mestre em Engenharia de Sistemas Químicos pela Universidade Estadual de Campinas
Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia - Campus Salvador.
Endereço: Rua Emídio dos Santos, s/n - Barbalho, Salvador – BA
E-mail: anagondim@ifba.edu.br

RESUMO: Neste artigo investigou-se a produção de biocombustível a partir do óleo residual de fritura por transesterificação etílica via catalise homogênea básica em um módulo didático de biodiesel pertencente ao curso de Engenharia Química da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará. O óleo de fritura residual utilizado foi obtido em residências no município de Marabá, no estado do Pará e foi caracterizado em termos de índice de acidez, porcentagem de ácidos graxos livres, massa específica, teor de umidade e viscosidade e os biocombustíveis foram caracterizados em termos de índice de acidez, massa específica, viscosidade, cinzas, além de análises de espectroscopia no infravermelho para o óleo de fritura e o biodiesel. Foram realizados dois experimentos de transestericação com hidróxido de potássio (KOH) e um com hidróxido de sódio (NaOH) com massa equivalente de catalisador a 1 % e temperatura de reação de 60 ºC, variando razão molar de óleo/ álcool e tempo de reação. Os resultados experimentais demonstraram que o experimento utilizando NaOH foi o que se apresentou consoante com as normas da Agência Nacional de petróleo. Assim, verificou-se que é possível a produção de biodiesel em um módulo didático a partir de óleo de fritura residual, demonstrando a viabilidade da produção de biodiesel utilizando uma matéria-prima residual.

PALAVRAS-CHAVE: *biodiesel, transesterificação, óleo de fritura.*

ABSTRACT: In this article, we investigated the production of biofuel from residual frying oil by ethyl transesterification via basic homogeneous catalysis in a didactic biodiesel module belonging to the Chemical Engineering course at the Federal University of the South and Southeast of Pará. Residual frying oil used was obtained in homes in the municipality of Marabá, in the state of Pará and was characterized in terms of acidity index, percentage of free fatty acids, specific mass, moisture content and viscosity and biofuels were characterized in terms of acidity index, specific mass, viscosity, ash, in addition to infrared spectroscopy analysis for frying oil and biodiesel. Two transesterication experiments were carried out with potassium hydroxide (KOH) and one with sodium hydroxide (NaOH) with 1% equivalent catalyst mass and reaction temperature of 60 ºC, varying the oil / alcohol molar ratio and reaction time. The experimental results showed that the experiment using NaOH was what was presented according to the rules of the National Petroleum Agency. Thus, it was found that the production of biodiesel in a didactic module from residual frying oil is possible, demonstrating the viability of biodiesel production using a residual raw material.

KEYWORDS: *biodiesel, transesterification, frying oil.*

1. INTRODUÇÃO

O agravamento das questões ambientais em todo o planeta vem fazendo com que se pense em formas alternativas de energia, que sejam menos poluentes e sustentáveis ao longo do tempo.

A fim de minimizar a emissão de poluentes na atmosfera, os combustíveis renováveis estão sendo cada vez mais estudados. Dentre os biocombustíveis, os mais populares são os ésteres metílicos e etílicos de óleos e gorduras vegetais, denominados de biodiesel.

Para obter biodiesel, o óleo vegetal ou gordura animal é submetido a uma reação química denominada transesterificação. Nessa reação, o óleo vegetal ou gordura animal é reagido na presença de um catalisador (geralmente uma base) com um álcool (geralmente metanol ou etanol) para formar os ésteres alquilicos correspondentes (KNOTHE; GERPEN; KRAHL, 2005).

O biodiesel pode ser produzido a partir de uma grande variedade de matérias-primas. Estas matérias-primas incluem os óleos vegetais mais comuns (por exemplo, soja, palma, amendoim, canola, girassol) e gorduras animais (geralmente sebo) bem como óleos usados (por exemplo, óleos para fritar usados). A escolha da matéria-prima depende em grande parte da geografia. Dependendo da origem e da qualidade da matéria-prima, alterações no processo de produção podem ser necessárias (KNOTHE; GERPEN; KRAHL, 2005).

Matérias-primas baratas como óleos e gorduras residuais têm atraído à atenção de produtores de biodiesel devido ao seu baixo custo. A reciclagem do óleo de fritura como biocombustível não somente retiraria um composto indesejado do meio ambiente, mas também permitiria a geração de uma fonte de energia alternativa, renovável e menos poluente. Neste contexto, este artigo se propõe a produzir o biocombustível a partir do óleo residual de fritura por transesterificação etílica via catalise homogênea básica em um módulo didático de biodiesel.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O óleo de fritura residual (OFR) utilizado nesse trabalho foi obtido em residências no município de Marabá, no estado do Pará. Antes de ser caracterizado, o mesmo passou por um processo de decantação seguido de uma filtração simples,

na qual se retirou resíduos sólidos que pudessem prejudicar o bom resultado dos experimentos.

As reações de transesterificação por catálise homogênea básica ocorreram em um modulo didático de biodiesel (Marca: UpControl), o qual pertence ao curso de Engenharia Química da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará-Unifesspa.

Figura 1. Módulo didático de biodiesel

Fonte: Os Autores.

O procedimento experimental consistiu inicialmente em pesar 1L do óleo residual de fritura em uma balança analítica (MARTE-UX8200S), que resultaram em 896,6 g. Após isso, essa quantidade de óleo residual foi inserida no módulo didático de biodiesel e um banho ultratermostático foi conectado ao condensador acoplado a tampa do reator. As condições reacionais utilizadas estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Experimentos realizados.

Testes	Razão óleo/álcool	Catalisador (1 %)	Temperatura (ºC)	Tempo (min)
1	1:8	KOH	60 ºC	50
2	1:8	NaOH	60 ºC	50
3	1:6	KOH	60 ºC	30

Foram realizadas análises físico-químicas no óleo de fritura de acordo com as normas da AOCS e para o biodiesel de acordo com a ANP, 2014. Realizou-se análises de espectroscopia no infravermelho (IV) no óleo de fritura residual e no biodiesel obtido.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados das analises físico-químicas do óleo de fritura residual utilizado nos ensaios experimentais são apresentados na Tabela 2. Os resultados estão de acordo com os valores descritos na literatura, tais como Alves e Pacheco, 2014 e Santos, 2013. O parâmetro índice de acidez apresentou um valor baixo, caracterizando baixo teor de ácidos graxos livres nessa matéria prima, indicando que o óleo de fritura possivelmente não foi reutilizado várias vezes.

Tabela 2. Características do óleo de fritura residual.

Características	Valores
Índice de Acidez (mgKOH/g)	0,6
Ácidos Graxos Livres (%)	0,3
Massa específica (kg/m^3)	918,0
Teor de umidade (%)	0,1
Viscosidade (mm^2.s^{-1})	41,50

Fonte: Os Autores.

A Figura 2 apresenta espectro de infravermelho para o óleo de fritura residual. O espectro apresentou bandas de estiramento típicas de óleos vegetais com destaque para a intensa absorção do estiramento da carbonila C=O em, 1740 cm^{-1}, características das carbonilas dos ésteres de triglicerídeos, de acordo com Santos (2013).

Figura 2. Infravermelho do óleo de fritura.

Fonte: Os Autores.

A Tabela 3 apresenta as características obtidas para os experimentos obtidos no módulo de Biodiesel.

Tabela 3. Características físico-químicas do biodiesel

Testes	Massa específica (kg/m^3)	Viscosidade $(mm^2.s^{-1})$	Índice de Acidez (mgKOH/g)	Cinzas (%)
1	903,0	2,68	1,07	0,004
2	910,8	3,51	0,5	0,004
3	903,0	2,98	1,22	0,003

Fonte: Os Autores.

Observou-se que o experimento 2 foi o que mais se enquadrou dentro das normas da Agência Nacional de petróleo, com excessão da massa especifica que apresentou um valor um pouco acima da norma.

Com relação à viscosidade, a ANP estabelece uma faixa ideal entre 3 e 6 mm^2/s. O teste 2 apresentou valor de acordo com a norma. Ressalta-se que alta viscosidade ocasiona heterogeneidade na combustão do biodiesel, devido à diminuição da eficiência de atomização na câmara de combustão, ocasionando a deposição de resíduos nas partes internas do motor.

Segundo ANP, (2014) o biodiesel deve apresentar um índice de acidez máximo de 0,5 mg KOH/g. De acordo com os resultados observou-se que o teste 2, utilizando o catalisador NaOH se enquadrou dentro do valor exigido pela ANP, no entanto, os

testes 1 e 3 não se enquadraram na norma, desta forma faz-se necessário realizar a otimização do processo, a qual encontra-se em andamento com etapas de purificação e adsorção, objetivando retirar os resíduos presentes no biodiesel, de forma a adequar os parâmetros com a norma da ANP.

Perassi *et al.* (2016) obtiveram resultados de índice de acidez de 2,07 e 2,16 mgKOH/g para biodiesel obtido de óleo de fritura residual e óleo de fritura virgem pelo processo de transesterificacão por meio da rota etílica, respectivamente, demonstrando uma alternativa promissora frente aos resultados obtidos, mesmo com os altos índices de acidez.

Com relação ao teor de cinzas observa-se que os experimentos estão de acordo com os padrões da ANP, que estabelece um valor máximo de 0,02% de cinzas sulfatadas.

A Figura 3 apresenta o infravermelho do experimento 1. Observa-se duas bandas fortes, uma identificada em 1750 cm^{-1} e outra entre 1000 e 1300 cm^{-1}, que correspondem a estiramentos C=0 e C-O, caracterizando a presença de grupos ésteres nas amostras, indicando a conversão da matéria-prima.

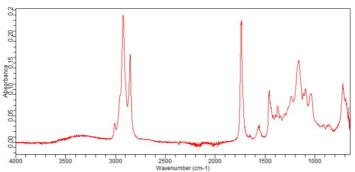



Figura 3. Infravermelho do experimento 1 (1% KOH, razão 1:8, 50 min).

Fonte: Os Autores.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos verificou-se que o experimento 2 com óleo de fritura utilizando 1 % de NaOH apresentou resultados que mais se enquadraram dentro das normas da Agência Nacional de petróleo.

Assim, verifica-se que é possível a produção de biodiesel em um módulo didático a partir de óleo de fritura residual, apesar da dificuldade de adequação de

alguns parâmetros. Desta forma, este trabalho apresentou a viabilidade da produção de biodiesel utilizando uma matéria-prima residual, o que reforça o caráter renovável.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq. Ao Núcleo de Tratamento de Resíduos Sólidos e Sustentabilidade (NUTRARES) da UNIFESSPA.

REFERÊNCIAS

ALVES, A. A.; PACHECO, B. T. G. Síntese do biodiesel a partir de óleo residual através da esterificação homogênea dos ácidos graxos livres e transestericação alcalina. 2014. Monografia (Bacharel em Engenharia Química), Universidade de Alfenas, Poços de Caldas- MG, Brasil.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Resolução nº 45, de 25 de agosto 2014. Diário Oficial da União, Brasília, DF.

KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J. The Biodiesel Handbook. 1. ed. [S.I.]: AOCS Press, 2005.

PERASSI, I. S. T. et al. Obtenção de biodiesel a partir de óleo residual via rota etílica. 2016. XXI Congresso Brasileiro de Engenharia química. Fortaleza/Ce.

SANTOS, W. G. dos. Craqueamento termocatalitico do óleo de fritura residual. Dissertação (Mestrado) | Universidade Federal do Pará, Belém-PA, Brasil, 2013.

CAPÍTULO 22

SÍNTESE CATALISADORES HETEROGÊNEOS UTILIZANDO COMO MATÉRIA-PRIMA O REJEITO DO BENEFICIAMENTO MINERAL VISANDO A PRODUÇÃO DE BIODIESEL.

Lorrayne Sampaio Freitas
Graduando em Engenharia Química pela Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará.
Instituição: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Faculdade de Engenharia de Minas e Meio Ambiente.
Endereço: Folha 31, Quadra 07, Lote Especial, s/n. Bairro: Nova Marabá – Marabá-PA, Brasil.
E-mail: Lorrayne.sampaio@unifesspa.edu.br

Kaisson Almeida Ferreira
Graduando em Engenharia Química pela Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará.
Instituição: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Faculdade de Engenharia de Minas e Meio Ambiente.
Endereço: Folha 31, Quadra 07, Lote Especial, s/n. Bairro: Nova Marabá – Marabá-PA, Brasil.
E-mail: kaysson_17@hotmail.com

Débora Nascimento Barros
Graduando em Engenharia Química pela Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará.
Instituição: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Faculdade de Engenharia de Minas e Meio Ambiente.
Endereço: Folha 31, Quadra 07, Lote Especial, s/n. Bairro: Nova Marabá, Marabá-PA, Brasil.
E-mail: debora.nascimento@unifesspa.edu.br

Daniel Campos da Paixão
Graduado em Engenharia Química pelo Instituto Federal da Bahia.
Endereço: Rua Emídio dos Santos, s/n - Barbalho, Salvador – BA.
E-mail: campos_paixão@hotmail.com

Gicélia Rodrigues
Doutora em Engenharia Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
Instituição: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Faculdade de Engenharia de Minas e Meio Ambiente.
Endereço: Folha 31, Quadra 07, Lote Especial, s/n. Bairro: Nova Marabá, Marabá-PA, Brasil.
E-mail: gicelia.rodrigues@unifesspa.edu.br

Dyenny Ellen Lima Lhamas
Doutora em Engenharia de Recursos Naturais pela Universidade Federal do Pará.
Instituição: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Faculdade de Engenharia de Minas e Meio Ambiente.
Endereço: Folha 31, Quadra 07, Lote Especial, s/n. Nova Marabá – Marabá-PA, Brasil.
E-mail: dyenny@unifesspa.edu.br

Daiane Farias Pereira Suffredini
Doutora em Engenharia Química pela Universidade Federal da Bahia Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia - Campus Ilhéus.
Endereço: Rodovia Jorge Amado, Km 13, S/N – Vila Cachoeira - Ilhéus-BA.
E-mail: daianefarias@ifba.edu.br

Ana Cláudia Gondim de Medeiros
Mestre em Engenharia de Sistemas Químicos pela Universidade Estadual de Campinas.
Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia - Campus Salvador Endereço: Rua Emídio dos Santos, s/n - Barbalho, Salvador – BA.
E-mail: anagondim@ifba.edu.br

RESUMO: Os catalisadores heterogêneos apresentam vantagens significativas na produção de biodiesel, tais como; menor contaminação dos produtos; facilidade de separação do catalisador do meio reacional; possibilidade de reaproveitamento do catalisador; diminuição dos problemas de corrosão. Portanto, pesquisas estão sendo desenvolvidas na obtenção de materiais catalíticos que apresentam uma facilidade de síntese e poros relativamente grandes que facilitam a acessibilidade dos reagentes no interior das partículas, minimizando resistências ao transporte de massa. Este artigo teve como contexto a síntese de novos catalisadores heterogêneos utilizando como matéria-prima o rejeito do beneficiamento do calcário para aplicação na produção de biodiesel. Os resultados são bem satisfatórios quando comparado ao parâmetro estabelecido pela norma da ABNT, no que tange a sua acidez, uma vez que se trata de uma transesterificação para produção de biodiesel a partir de catalisador heterogêneo a base de rejeito da mineração.

PALAVRAS-CHAVE: *biodiesel, catalisador heterogêneo, óleo vegetal.*

ABSTRACT: Heterogeneous catalysts have significant advantages in the production of biodiesel, such as; less contamination of products; ease of separating the catalyst from the reaction medium; possibility of reusing the catalyst; reduction of corrosion problems. Therefore, research is being carried out to obtain catalytic materials that have a facility for synthesis and relatively large pores that facilitate the accessibility of reagents inside the particles, minimizing resistance to mass transport. This article had as context the synthesis of new heterogeneous catalysts using as raw material the waste from limestone processing for application in the production of biodiesel. The results are quite satisfactory when compared to the parameter established by the ABNT standard, with regard to its acidity, since it is a transesterification for the production of biodiesel from a heterogeneous catalyst based on mining waste.

KEYWORDS: *biodiesel, heterogeneous catalyst, vegetable oil.*

1. INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2004, foi lançado no Brasil, pelo o Governo Federal, o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), com o objetivo inicial de introduzir o biodiesel na matriz energética brasileira com enfoque na inclusão social e no desenvolvimento regional, via geração de emprego e renda (ANP). No dia 1 setembro de 2019 o Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) aprovou a composição de 11 % de biodiesel ao óleo diesel, essa composição é vendida ao consumidor final como (B-11) e até 2023 o B-15, com 15 % de biodiesel. Com o aumento da composição do biodiesel houve uma expectativa no aumento da demanda do biodiesel o que geraria empregos e renda.

O biodiesel consiste de um combustível biodegradável derivado de óleos vegetais e gorduras animais, formado por ésteres de ácidos graxos, ésteres de alquila (metila, etila ou propila) de ácidos carboxílicos de cadeia longa (Silva, 2015; Oliveira, 2006). Para garantir a qualidade do biodiesel é necessário estabelecer padrões de qualidade, objetivamente fixar teores limites dos contaminantes que não venham prejudicar a qualidade das emissões da queima, bem como o desempenho, a intensidade do motor e a segurança no transporte e manuseio. O índice de acidez é uma análise muito importante para o biodiesel uma vez que elevada acidez dificulta a reação de produção do biodiesel, enquanto que um biodiesel ácido pode provocar corrosão do motor, ou deterioração do biocombustível. (Silva. P *et al*., 2010).

O processo convencional para produção de biodiesel ocorre pela transesterificação alcalina homogênea de óleos vegetais ou gordura animal com álcool. Entretanto, apesar dos catalisadores homogêneos promoverem a reação com uma boa velocidade e uma boa conversão, tem grandes dificuldades de recuperação, pois exige uma grande quantidade de água e por sua vez a geração de uma grande quantidade de efluente. Por isso, tendência atual das pesquisas nesse campo é focada no aprimoramento desses processos com o uso de catalisadores heterogêneos, visto que os catalisadores heterogêneos apresentam vantagens significativas na produção na produção do biodiesel, tais como: menor contaminação, facilidade de separação do catalisador do meio reacional, possibilidade de reaproveitamento do catalisador, diminuição da corrosão (Cordeiro *et al*., 2011). Portanto, várias pesquisas estão sendo desenvolvidas na obtenção de materiais com

propriedades catalíticas com poros relativamente grandes que facilitam a acessibilidade dos reagentes no interior das partículas, minimizando resistências ao transporte de massa. Muitos rejeitos provenientes do beneficiamento do minério possuem em sua composição matérias-primas com altas propriedades catalíticas.

Este artigo visa a síntese de novos catalisadores heterogêneos utilizando como matéria-prima o rejeito do beneficiamento do calcário para aplicação na produção de biodiesel, e para medir a qualidade do biodiesel produzido, será analisado o nível de acidez segundo a norma ABNT NBR-14448.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A amostra de rejeito foi fornecida pela Mineradora Globo Verde Mineração Ltda, localizada no Município de Palestina no Estado do Pará. Os catalisadores foram obtidos pelo método de impregnação por excesso de solvente utilizando solução aquosa de hidróxido de potássio (KOH) para ser suportado em rejeito de calcário (MH). A amostra foi macerada, peneirada a 200 MESH, e depois calcinada a 700°C por 3 horas, identificada com MHC. A amostra MH foi submetida a impregnação com solução de KOH 30 % e identificada como MHI. Em seguida, a amostra impregnada passou por uma etapa de secagem em estufa a 110º C por 24 horas. O Resíduo do processo de refino do óleo de palma foi fornecido pela Agropalma, Localizada, Belém-PA. O mesmo passou por um processo de filtração a vácuo para obtenção do óleo a ser utilizado na etapa de transesterificação, **Figura 1.** O índice de acidez após a filtração do óleo de palma foi de 2,67 mgKOH/g.óleo.

Figura 1. Filtração do resíduo do processo de refino do óleo de palma.

Fonte: Os Autores.

A reação de transesterificação foi realizada por rota etílica, utilizando um sistema de refluxo, com um balão de fundo chato de 500 ml acoplado em um condensador. A mistura reacional (etanol/óleo de palma/catalisador) foi adicionada ao balão sob agitação constante a 70 ºC. As condições reacionais razão molar, foi de 15:1 e a do catalisador foi de (4 %). Os tempos de reação estudados foram de 1, 3 e 5 horas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 mostra os difratogramas de raios X do catalisador KOH/MH (MHI) e dos rejeitos de minério não calcinado (MH) e calcinado (MHC). Para mostra MH foi possível identificar a presença de picos característicos em SiO_2 (dióxido de silício) que é matéria-prima para síntese de catalisadores. A amostra MH apresentou características de Calcita, Dolomita e Quartz com esses picos foram comparados com os padrões da JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards); 01-079-1906(Quartz); 00-036-0426(dolomita); 01-089- 1304(calcita). Após a impregnação foi possível observar picos característico de Potássio (K). Esse pico foi comparado com os padrões da JCPDS; código ICSD 01-089-3993.

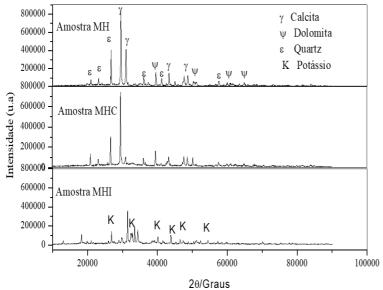
Figura 2. Difratogramas de raios X do catalisador e KOH/MH (MHI) e dos rejeitos de minério não calcinado (MH) e calcinado (MHC).

Fonte: Os Autores.

Tabela 1. Índice de acidez após a reação de transesterificação do óleo de palma (mgKOH/g. óleo)

Amostras	Óleo de palma Filtrado	MH	MHC	MHI
Tempo de reação (horas)				
-	2,67	-	-	-
1	-	0,436	0,531	0,430
3	-	0,542	0,478	0,539
5	-	0,482	0,629	0,501

Fonte: Os Autores.

A Tabela 1 mostra os resultados dos índices de acidez das amostras da reação de transesterificação do óleo de Palma. Observa-se que para amostra MH e MHI o melhor tempo de reação é de 1 hora, já para amostra MHC o melhor tempo é de 3 horas. De acordo com o regulamento técnico ANP nº 3/2014, a especificação do Índice de acidez máximo para biodiesel é de 0,5 mg de KOH/g pelo método ASTM D – 664; ABNT NBR-14448; EM 14104. Esse monitoramento da acidez no biodiesel é de grande importância durante a estocagem, na qual a alteração dos valores neste período pode significar a presença de água. E como é observado nessa mesma

tabela, os resultados são bem satisfatórios quando comparado ao parâmetro estabelecido pela norma da ABNT, o que indica a possibilidade para a produção de um biodiesel com qualidade, no que tange a sua acidez, e de forma que facilita a viabilidade econômica, uma vez que se trata de uma transesterificação realizada a partir de catalisador heterogêneo a base de rejeito, como também o óleo obtido foi do resíduo do processo de refino do óleo de palma e que além de poder ser reaproveitado, não é necessário uma lavagem para a retirada do catalisador.

4. CONCLUSÓES

O rejeito de minério MH mostrou que sua composição possui elevada propriedades catalíticas e a técnica de impregnação favoreceu a síntese do catalisador suportado KOH/MH (MHI). O DRX, confirmou a presença da fase ativa K2O. A aplicação do MHI na reação de transesterificação do óleo de Palma foi considerada eficaz, pois apresentou redução no índice de acidez o qual é um indicativo que ocorreu a conversão de triglicerídeos para ésteres com um índice de acidez satisfatório em um menor tempo de reação. Todavia, outras análises também serão realizadas, como o infravermelho por transformada de Fourier (FTIR),

microscópio eletrônico de varredura MEV e cromatografia gasosa (CG), afim de se obter resultados mais precisos sobre a verdadeira composição do biodiesel formado, e verificar se a sua composição poderá causar algum dano no motor.

AGRADECIMENTOS

A FAPESPA. Ao Laboratório de Controle Ambiental e Química, ao técnico Gildson Ribeiro do Carmo do Laboratório de Caracterização Estrutural. Ao Núcleo de Tratamento de Resíduos Sólidos e Sustentabilidade (NUTRARES) da UNIFESSPA

REFERÊNCIAS

ANP Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustíves. http://www.anp.gov.br/biocombustiveis/biodiesel. Acesso em: em 30 de agosto de 2019.

Gondim, A. D.; Santos, M. F. V.; Oliveira, T. P.; Peixoto, C. G. D.; Batista, A. C. M.; Fernandes Jr, V. J**. Produção De Biodiesel Por Transesterificação Utilizando Catalisador Heterogêneo (KOH/Al2O3).** Acesso em: http://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/view/5195/pdf. Acessado: em 30 de agosto de 2019.

Medeiros, D.; Medeiros, G.; Barbosa, V.; Junior A.; Rodrigues De Oliveira, M.; Barbosa Rios, R. (2018) **Avaliação Da Produção De Biodiesel Por Transesterificação Via Catálise Heterogênea Utilizando Óxido De Magnésio**. Acesso em: http://www.abq.org.br/cbq/2018/trabalhos/9/1950-26872.html. Acessado em: 27 de agosto de 2019.

Silva, P. E.; Silva, G. M. H.; Almeida, S. R; Elson A. Monteiro, A. E.; Rocha, M. T.; **Determinação Do Índice De Acidez Em Óleo De Milho Para Produção De Biodiesel**. Acesso em: file:///D:/Users/Tiara%20Nogueira/Downloads/1810-5964-1-PB.pdf. Acessado em: 01 de setembro de 2019.

CAPÍTULO 23

ESTUDO DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO DO ÓLEO DE PALMA REFINADO POR VIA ETANÓLICA UTILIZANDO CATÁLISE HOMOGÊNEA E HETEROGÊNEA.

Cayck Trindade Ribeiro
Graduando em Engenharia Química pela Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará Instituição: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Faculdade de Engenharia de Minas e Meio Ambiente
Endereço: Folha 31, Quadra 07, Lote Especial, s/n. Nova Marabá, Marabá/PA, Brasil
E-mail: cayckeq@gmail.com

Victor Nascimento Braga
Graduando em Engenharia Química pela Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará Instituição: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Faculdade de Engenharia de Minas e Meio Ambiente
Endereço: Folha 31, Quadra 07, Lote Especial, s/n. Bairro: Nova Marabá – Marabá-PA, Brasil E-mail: vnascimentobraga@gmail.com

Felipe de Luca Lima Coelho
Graduando em Engenharia Química pela Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará Instituição: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Faculdade de Engenharia de Minas e Meio Ambiente
Endereço: Folha 31, Quadra 07, Lote Especial, s/n. Bairro: Nova Marabá – Marabá-PA, Brasil E-mail: felip-de-lucas@hotmail.com

Daniel Campos da Paixão
Graduado em Engenharia Química
Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia
Endereço: Rua Emídio dos Santos, s/n - Barbalho, Salvador - BA
E-mail: campos_paixao@hotmail.com

Dyenny Ellen Lima Lhamas
Doutora em Engenharia de Recursos Naturais pela Universidade Federal do Pará
Instituição: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Faculdade de Engenharia de Minas e Meio Ambiente
Endereço: Folha 31, Quadra 07, Lote Especial, s/n. Bairro: Nova Marabá – Marabá-PA, Brasil E-mail: dyenny@unifesspa.edu.br

Gicélia Rodrigues
Doutora em Engenharia Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte Instituição: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Faculdade de Engenharia de Minas e Meio Ambiente
Endereço: Folha 31, Quadra 07, Lote Especial, s/n. Bairro: Nova Marabá – Marabá-PA, Brasil
E-mail: gicelia.rodrigues@unifesspa.edu.br

Daiane Farias Pereira Suffredini
Doutora em Engenharia Química pela Universidade Federal da Bahia
Instituição: Instituto Federal da Bahia - Campus Ilhéus
Endereço: Rodovia Jorge Amado, Km 13, S/N – Vila Cachoeira - Ilhéus-BA E-mail: daiane.engenharia@hotmail.com

Ana Cláudia Gondim de Medeiros
Mestre em Engenharia de Sistemas Químicos pela Universidade Estadual de Campinas Instituição: Instituto Federal da Bahia - Campus Salvador
Endereço: Rua Emídio dos Santos, s/n - Barbalho, Salvador – BA
E-mail: anacgondim@terra.com.br

RESUMO: Neste artigo estudou-se a produção de biodiesel a partir da reação de transesterificação etanólica do óleo de palma refinado (*Elaeis guineenses*) objetivando a comparação da catálise básica utilizando etóxido de potássio com a catálise heterogênea utilizando casca de ovo não calcinada e casca de ovo calcinada. As condições reacionais foram: razão molar óleo/álcool de 1:8, temperatura da reação a 60ºC e um tempo de reação de 40 minutos. O óleo de palma e os ésteres etílicos foram caracterizados em termos de índice de acidez, densidade, porcentagem de ácidos graxos livres e viscosidade. De forma a determinar a eficiência da produção de ésteres etílicos foi determinado o rendimento para os ésteres etílicos produzidos. Os resultados obtidos demostraram que a produção de ésteres etílicos utilizando etóxido de potássio, casca de ovo não calcinada e casca de ovo calcinada apresentaram potencial como catalisadores, sendo este último apresentando características semelhantes com a Agência Nacional do Petróleo, gás natural e biocombustíveis, embora necessite mais tempo de processo por se tratar de uma catálise heterogênea.

PALAVRAS-CHAVE*: óleo de palma, transesterificação, catálise, homogênea, heterogênea*.

ABSTRACT: In this article we studied the production of biodiesel from the ethanolic transesterification reaction of refined palm oil (*Elaeis guineenses*) aiming to compare the basic catalysis using potassium ethoxide with the heterogeneous catalysis using uncalcined eggshell and calcined eggshell .The reaction conditions were: 1: 8 oil / alcohol molar ratio, reaction temperature at 60ºC and a reaction time of 40 minutes. Palm oil and ethyl esters were characterized in terms of acidity index, density, percentage of free fatty acids and viscosity. In order to determine the efficiency of the production of ethyl esters, the yield for the ethyl esters produced was determined.The results obtained demonstrated that the production of ethyl esters using potassium ethoxide, non-calcined eggshell and calcined eggshell showed potential as catalysts, the latter having similar characteristics with the National Petroleum Agency, natural gas and biofuels, although it needs more process time because it is a heterogeneous catalysis.

KEYWORDS: *palm oil, transesterification, catalysis, homogeneous, heterogeneous.*

1. INTRODUÇÃO

O esgotamento das fontes energéticas não renováveis, preocupação com a poluição ambiental e a emissão de gases de efeito estufa na atmosfera, têm impulsionado as buscas para fontes de energias renováveis e limpas (GAMA *et al,* 2010; LEITE *et al,* 2007).

Umas das alternativas é o biodiesel, este é um combustível biodegradável produzido a partir de óleo vegetais, residuais e gordura animal. (NASCIMENTO *et al*, 2009).

A produção de biodiesel pode ocorrer através da reação de transesterificação, onde é utilizado álcoois de cadeia curta, como por exemplo, metanol e etanol, em que o produto da reação são ésteres (biodiesel) e glicerina. A reação pode ocorrer utilizando catálise homogênea e heterogênea.

Na transesterificação a utilização de catalisadores homogêneos, apresentam rendimentos satisfatórios para a produção, devido a sua elevada atividade catalítica (CASTRO et al, 2018), mas este apresenta dificuldades na sua) recuperação, necessitando de mais processos na produção, o que pode elevar os custos da produção.

Dessa forma a necessidade de obter novas formas para melhorar e reduzir os custos da produção do biodiesel, ampliaram as buscas por catalisadores heterogêneos (CASTRO *et al*, 2018).

A grande quantidade de carbonato de cálcio ($CaCO_3$) presente na casca de ovo, torna- se uma alternativa para a utilização como catalisador, uma vez que com o processo de calcinação o carbonato de cálcio se transforma em CaO, este um dos materiais mias estudados como catalisadores (PIMENTA *et al*, 2018).

O presente artigo tem como objetivo realizar a reação de transesterificação do óleo de palma refinado (*Elaeis guineenses*) com álcool etílico utilizando razão molar óleo/álcool de 1:8, temperatura a 60ºC e um tempo de reação de 40 minutos, e comparar a eficiência da catálise básica utilizando etóxido de potássio (proveniente da dissolução do KOH no etanol) com a eficiência da catálise heterogênea utilizando casca de ovo não calcinada e casca de ovo calcinada, com alto teor de Óxido de Cálcio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O óleo de palma refinado doado pela empresa AGROPALMA S/A, foi inicialmente caracterizado, com o propósito de avaliar a sua viabilidade para a síntese de Biodiesel. A caracterização foi realizada utilizando as normas a seguir: AOCS Cd 3d-63 para a determinação do índice de acidez (IA), AOCS Cc 10c-95 para determinar a densidade e AOCS Ca5a40 para determinar a porcentagem de ácidos graxos livres (AGL).

A casca de ovo foi primeiramente cominuída, utilizando um almofariz, até a granulometria de 200 mesh. Para a calcinação a casca de ovo foi levada para a estufa a uma temperatura de 700 °C durante 3h.

O aparato utilizado para realizar a reação de transesterificação foi composto por um banho ultratermostático, condensador de bolas, balão de três saídas, chapa aquecedora e banho maria. As condições operacionais foram as seguintes: Razão molar óleo/álcool 1:8, temperatura 60 ºC, tempo de reação 40 minutos.

Para a remoção dos catalisadores utilizados, realizou-se o processo de filtração simples para a catálise heterogênea e lavagem no processo homogêneo. A retirada do álcool remanescente da reação foi realizada em uma estufa a 100 ºC durante 1h.

Por fim, procedeu-se o processo de separação das fases, por diferença de densidade, utilizando um funil de decantação. Ao final da decantação foi realizada uma purificação dos ésteres etílicos com água destilada a 70 ºC.

As análises físico-químicas para o ésteres etílicos obtidos foram realizadas, de acordo com as Normas da Agência Nacional de petróleo, gás natural e biocombustíveis.

De forma a determinar a eficiência da produção de ésteres etílicos foi determinado o rendimento (R) para os ésteres etílicos produzidos. O rendimento foi definido como o valor que expressa à massa de ésteres etílicos em relação à massa de óleo usada na reação de transesterificação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises físico-químicas do óleo de palma refinado estão inseridas na Tabela 1.

Tabela 1. Características físico-químicas do óleo de palma refinado

Parâmetros	Óleo de Palma refinado	Óleo Refinado (ANIMA)
IA (mgKOH/g)	0,2664	≤ 0,3
AGL (%)	0,1339	-
Massa específica (kg/m^3)	914,8	891,0 a 899,0
Viscosidade (mm^2/s)	47,96	-

Fonte: Os Autores.

Verificou-se que o índice de acidez do óleo de palma refinado está dentro dos padrões de mercado, o que colabora para a produção, uma vez que um elevado índice de acidez pode ocasionar a formação de sabão na catálise homogênea. Observou-se que os parâmetros apresentaram valores dentro do intervalo especificado pela literatura, de acordo com a empresa do agronegócio ANIMA.

Os resultados da análise físico-química de índice de acidez (IA), ácidos graxos livres (AGL), massa específica, viscosidade cinemática e o rendimento dos produtos obtidos estão dispostos na tabela 2, onde é possível observar a comparação com parâmetros da resolução da Agência Nacional de Petróleo (ANP) de 2014.

Tabela 2. Tabela com parâmetros da ANP e resultados da análise dos produtos obtidos.

Parâmetros	Ésteres etílicos I (KOH)	Ésteres etílicos (Casca de ovo bruta)	Ésteres etílicos (Casca de ovo calcinada)	ANP, (2014)
IA (mgKOH/g)	0,64	0,66	0,55	0,5
AGL (%)	0,32	0,33	0,27	-
Massa específica (kg/m^3)	909,0	913,0	908,0	850 à 900
Viscosidade (mm^2/s)	-	5,0	5,63	3 a 6
Rendimento (%)	100	89	94	-

-Não foi possível a realização da análise.
Fonte: Os Autores.

Observou-se que os resultados obtidos estão próximos dos parâmetros estabelecidos pela ANP, destacando-se a viscosidade que se encontra dentro da norma.

De acordo com os resultados, verificou-se uma redução acentuada da viscosidade dos ésteres etílicos produzidos em relação ao óleo de palma utilizado nos experimentos, a qual se deve a reação de transestericação, que proporciona a formação de ésteres estruturalmente mais simples que os triglicerídeos.

Notou-se que entre as três produções, embora a catálise heterogênea necessite de um maior tempo de operação que a catálise homogênea, os ésteres etílicos produzido com casca de ovo calcinada apresentou os melhores resultados, bem como um rendimento de 94 %, sendo possível perceber o grande potencial que o óxido de cálcio apresenta como catalisador.

O experimento empregando a catálise homogênea apresentou o maior rendimento chegando a 100 %, apesar de formado duas fases no produto, podem estar presentes na fase éster excesso de etanol, glicerina e catalisador, o qual pode ter contribuído para um rendimento elevado.

No entanto, na literatura, a catálise homogênea é descrita pela dificuldade de separação dos ésteres etílicos e glicerina, quando utilizado o álcool etílico, entretanto, apresenta rendimentos elevados.

Os produtos obtidos que não estão consoantes com a ANP podem ser adequados à norma, com mais etapas de purificações, visando à retirada das impurezas constituídas por componentes secundários formados na reação e por componentes não reagidos, os quais interferem na etapa de separação e na própria qualidade dos ésteres produzidos.

4. CONCLUSÕES

Com base no trabalho desenvolvido, pode ser possível produzir biodiesel (ésteres etílicos) através da reação de transesterificação via rota etílica, utilizando etóxido de potássio, casca de ovo não calcinada e casca de ovo calcinada como catalisadores, sendo este último apresentando características semelhantes com a Agência Nacional do Petróleo, gás natural e biocombustíveis, embora necessite mais tempo de processo por se tratar de uma catálise heterogênea. Com relação ao

rendimento o experimento com casca de ovo calcinada e o experimento com catálise homogênea apresentaram os maiores rendimentos.

AGRADECIMENTOS

A FAPESPA. A Agropalma S/A, pela disponibilização da matéria prima. Ao Núcleo de Tratamento de Resíduos Sólidos e Sustentabilidade (NUTRARES) da UNIFESSPA.

REFERÊNCIAS

ANIMA. Caracterização do óleo de palma refinado. 2017. <http://www.animaconsult.com.br/pdf/ov_016_oleo_palma_refinado.pdf>. Acesso em 25 de agosto de 2019.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Resolução nº 45, de 25 de agosto 2014. Diário Oficial da União, Brasília, DF.

CASTRO. L. S.; BARAÑANO. A. G. **Aplicação de CaO oriundo da casca de ovo de galinha para a produção de biodiesel: uma revisão.** Perspectivas da Ciência e Tecnologia, p 182-201. v.10, 2018.

GAMA. P. E.; GIL. R. A S. S.; LACHTER. E. R. **Produção de biodiesel através de transesterificação in situ de sementes de girassol via catálise homogênea e heterogênea.** Quim. Nova, v. 33. n. 9. p. 1859-1862, 2010.

LEITE. R. C. C.; LEAL. M. R. L. V. **O biocombustível no Brasil.** Novos Estudos 78, p. 15-21. Julho, 2007.

NASCIMENTO. M. U., VASCONCELOS. A. C. S.; AZEVEDO. E. B. **Otimização da produção de biodiesel a partir de óleo de coco babaçu com aquecimento por microondas.** Eclética Química. v. 34. n. 4. p. 37-48. São Paulo, 2009.

PIMENTA. L. B.; FONSECA. A; F. S.; ALBUQUERQUE. R. N. O.; PEREIRA. C. A. F. **Estudo da utilização da casca de ovo para a produção de biodiesel.** São Paulo, Setembro de 2018.

SOBRE O ORGANIZADOR

Edilson Antonio Catapan: Doutor e Mestre em Engenharia da Produção pela Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC (2005 e 2001), Especialista em Gestão de Concessionárias de Energia Elétrica pela Universidade Federal do Paraná - UFPR (1997), Especialista em Engenharia Econômica pela Faculdade de Administração e Economia - FAE (1987) e Graduado em Administração pela Universidade Positivo (1984). Foi Executivo de Finanças por 33 anos (1980 a 2013) da Companhia Paranaense de Energia - COPEL/PR. Atuou como Coordenador do Curso de Administração da Faculdade da Indústria da Federação das Indústrias do Paraná - FIEP e Coordenador de Cursos de Pós-Graduação da FIEP. Foi Professor da UTFPR (CEFET/PR) de 1986 a 1998 e da PUCPR entre 1999 a 2008. Membro do Conselho Editorial da Revista Espaço e Energia, avaliador de Artigos do Encontro Nacional de Engenharia de Produção - ENEGEP e do Congresso Nacional de Excelência em Gestão - CNEG. Também atua como Editor Chefe das seguintes Revistas Acadêmicas: Brazilian Journal of Development, Brazilian Applied Science Review e Brazilian Journal of Health Review.